

最終報告書

表 題：C.I. ピグメントイエロー 53 のラットにおける反復投与毒性・生殖発生
毒性併合試験

試験番号：SR-9984

株式会社 化合物安全性研究所

目次

頁

要約	3
緒言	5
材料および方法	5
成績	16
考察	20
参考文献	21

Figures 添付

1. Body weight changes of male rats dosed orally with C. I. Pigment Yellow 53 (PY53) in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test (SR-9984)
2. Food consumption of male rats dosed orally with C. I. Pigment Yellow 53 (PY53) in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test (SR-9984)
3. Body weight changes before gestation period of female rats dosed orally with C. I. Pigment Yellow 53 (PY53) in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test (SR-9984)
4. Body weight changes during gestation period of female rats dosed orally with C. I. Pigment Yellow 53 (PY53) in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test (SR-9984)
5. Body weight changes during lactation period of female rats dosed orally with C. I. Pigment Yellow 53 (PY53) in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test (SR-9984)
6. Food consumption before gestation period of female rats dosed orally with C. I. Pigment Yellow 53 (PY53) in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test (SR-9984)
7. Food consumption during gestation period of female rats dosed orally with C. I. Pigment Yellow 53 (PY53) in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test (SR-9984)
8. Food consumption during lactation period of female rats dosed orally with C. I. Pigment Yellow 53 (PY53) in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test (SR-9984)

9. Body weight changes of pups in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of C. I. Pigment Yellow 53 (PY53) in rats (SR-9984)

Tables..... 添付

1. Experimental design for the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of C. I. Pigment Yellow 53 (PY53) in rats (SR-9984)
2. General appearance of male rats dosed orally with C. I. Pigment Yellow 53 (PY53) in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test (SR-9984)
3. Body weight changes of male rats dosed orally with C. I. Pigment Yellow 53 (PY53) in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test (SR-9984)
4. Food consumption of male rats dosed orally with C. I. Pigment Yellow 53 (PY53) in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test (SR-9984)
5. Urinary findings of male rats dosed orally with C. I. Pigment Yellow 53 (PY53) in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test (SR-9984)
6. Hematological findings of male rats dosed orally with C. I. Pigment Yellow 53 (PY53) in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test (SR-9984)
7. Biochemical findings of male rats dosed orally with C. I. Pigment Yellow 53 (PY53) in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test (SR-9984)
8. Gross findings of male rats dosed orally with C. I. Pigment Yellow 53 (PY53) in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test (SR-9984)
9. Absolute and relative organ weights of male rats dosed orally with C. I. Pigment Yellow 53 (PY53) in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test (SR-9984)
10. Histopathological findings of male rats dosed orally with C. I. Pigment Yellow 53 (PY53) in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test (SR-9984)
11. General appearance of female rats dosed orally with C. I. Pigment Yellow 53 (PY53) in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test (SR-9984)
12. Body weight changes before gestation period of female rats dosed orally with C. I. Pigment Yellow 53 (PY53) in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test (SR-9984)
13. Body weight changes during gestation period of female rats dosed orally with C. I. Pigment Yellow 53 (PY53) in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test (SR-9984)

14. Body weight changes during lactation period of female rats dosed orally with C. I. Pigment Yellow 53 (PY53) in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test (SR-9984)
15. Food consumption before gestation period of female rats dosed orally with C. I. Pigment Yellow 53 (PY53) in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test (SR-9984)
16. Food consumption during gestation period of female rats dosed orally with C. I. Pigment Yellow 53 (PY53) in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test (SR-9984)
17. Food consumption during lactation period of female rats dosed orally with C. I. Pigment Yellow 53 (PY53) in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test (SR-9984)
18. Hematological findings of female rats dosed orally with C. I. Pigment Yellow 53 (PY53) in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test (SR-9984)
19. Biochemical findings of female rats dosed orally with C. I. Pigment Yellow 53 (PY53) in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test (SR-9984)
20. Gross findings of female rats dosed orally with C. I. Pigment Yellow 53 (PY53) in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test (SR-9984)
21. Absolute and relative organ weights of female rats dosed orally with C. I. Pigment Yellow 53 (PY53) in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test (SR-9984)
22. Histopathological findings of female rats dosed orally with C. I. Pigment Yellow 53 (PY53) in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test (SR-9984)
23. Reproductive performance in parental rats dosed orally with C. I. Pigment Yellow 53 (PY53) in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test (SR-9984)
24. Pregnancy and litter data of rats dosed orally with C. I. Pigment Yellow 53 (PY53) in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test (SR-9984)
25. General appearance of pups in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of C. I. Pigment Yellow 53 (PY53) in rats (SR-9984)
26. Body weight changes of pups in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of C. I. Pigment Yellow 53 (PY53) in rats (SR-9984)
27. Gross findings of pups in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of C. I. Pigment Yellow 53 (PY53) in rats (SR-9984)

要 約

C. I. ピグメントイエロー 53 (PY53) の0(対照群)、250、500および1000 mg/kgを1群雌雄各12匹のCrj:CD(SD)IGSラットに、雄ラットに対しては交配前、交配期間および交配後を含む計46日間、雌ラットに対しては交配前、交配および妊娠期間、ならびに哺育4日までの期間、反復経口投与し、雌雄動物への反復投与による影響、雌雄動物の生殖および新生児の発生に及ぼす影響について検討し、以下の成績を得た。

1. 反復投与毒性

- (1) 500 および 1000 mg/kg 群で、雌雄とも一般状態の変化として糞便の黄色または黄褐色化、剖検所見として盲腸の内容物黄緑色化が観察された。しかし、これらの変化は、消化管内でPY53が内容物を着色したものであり、PY53投与による影響とは考えられなかった。
- (2) 体重推移、摂餌量および尿検査では、各投与群の雌雄ともPY53投与による影響は認められなかった。
- (3) 血液学的検査および血液化学的検査では、各投与群の雌雄ともPY53投与による影響は認められなかった。
- (4) 器官重量には、各投与群の雌雄ともPY53投与による影響は認められなかった。
- (5) 病理組織学的検査の結果、1000 mg/kg 群の雌雄ともPY53投与による影響は認められなかった。

以上のことから、各投与群の雌雄ともPY53の反復投与による影響は認められなかった。したがって、本試験条件下におけるPY53の無影響量(NOEL)は雌雄とも1000 mg/kg/day以上であると考えられた。

2. 生殖発生毒性

- (1) 生殖能検査では、各投与群とも雌の性周期、雌雄の交尾率、受胎率、出産率、妊娠期間および哺育4日時哺育率に変化はみられず、生殖器(精巣、精巣上体および卵巣)および内分泌器官(副腎)の重量ならびに剖検に変化は認められなかった。また、1000 mg/kg 群の生殖器の病理組織学的検査でも異常は認められなかった。
- (2) 母動物の黄体数、着床数、着床率、総出産児数、出産児の性比、哺育0日の生存児数、出生率、哺育4日の生存児数、新生児生存率には、PY53投与による影響は認められなかった。
- (3) 新生児の一般状態、体重および剖検では、各投与群とも影響は認められなかった。

以上のことから、雌雄の生殖および新生児に各投与群とも PY53 投与による影響は認められなかった。したがって、本試験条件下における PY53 の反復投与による親動物の生殖に対する無影響量(NOEL)ならびに新生児の発生に対する無影響量(NOEL)は 1000 mg/kg/day 以上と考えられた。

緒言

本試験は、OECD 既存化学物質の安全性点検事業の一環として、C. I. ピグメントイエロー 53 の 0 (対照群)、250、500 および 1000 mg/kg を 1 群雌雄各 12 匹の Crj:CD(SD) IGS ラットに反復経口投与して、雌雄動物への反復投与による影響、雌雄動物の生殖および新生児の発生に及ぼす影響を検討する目的で実施した。

材料および方法

1. 被験物質

被験物質は、TiO₂、Sb₂O₂、NiO を主成分とする C. I. ピグメントイエロー 53 (C. I. Pigment Yellow 53、以下 PY53 と略す、CAS No. : 8007-18-9、分子量 : 260.32、融点 : 1700°C、比重 ; 4.1-4.5、ロット番号 : 、純度 : 100%、提供者 :) で、黄色の粉末である (Appendix 1 および 2)。PY53 は遮光気密容器に入れ、冷暗所 (実測範囲 4~9°C) に保存した。被験物質サンプルとして、上記ロットについて約 1 g を採取し、試験施設の検体保存室に保存した。試験期間中の被験物質の安定性については、残余被験物質を用いて提供者である

が純度の分析を行い確認した (Appendix 3)。残余被験物質は試験操作終了後、へ返却した。

2. 対照物質

対照物質として 1% カルメロースナトリウム水溶液 (以下 1% CMC-Na 水溶液と略す) を用いた。1% CMC-Na 水溶液は、カルメロースナトリウム (Lot No. : 9318、丸石製薬株式会社) を精秤し精製水 (日本薬局方精製水、Lot No. : 9ZB1 および 05B1、ヤクハン製薬株式会社) に溶解して調製した。調製した対照物質は、遮光気密容器に入れて冷暗所 (実測範囲 4~9°C) に保存し、調製後 1 週間以内に使用した。また、PY53 の溶媒として投与液の調製にも使用した。

3. 投与液の調製および化学分析

(1) 投与液の調製

被験物質を乳鉢で研磨後、投与量毎に PY53 を精秤し、所定の濃度となるように対照物質である 1% CMC-Na 水溶液に懸濁し、超音波を用いて分散させた。調製の際にはゴム手袋およびマスクを着用した。調製頻度は 7 日間に 1 回以上の頻度で行い、調製液は調製後速やかに遮光気密容器に入れ、使用時まで冷所 (実測範囲 2.0~8.8°C) 保存し、室温に戻してから投与に使用した。残余調製液は焼却処分とした。

(2) 投与液の化学分析

投与に先立って 10 および 200 mg/mL の濃度の調製液について安定性の分析を実施した結果、調製液中の PY53 は室温で 24 時間、冷蔵で 7 日間安定であることが確認された (Appendix 4)。調製液は調製後 7 日以内に使用した。また、10、100 および 200 mg/mL の調製液についての均一性が確認されている (Appendix 4)。

投与に用いる初回および最終調製時の各濃度の調製液について PY53 の濃度を分析した結果、含有率は所定の濃度の 98.3~101.7% であり、調製状態は良好であると判断した (Appendix 5 および 6)。

以上の分析は、
:において実施された。

4. 試験方法

(1) 試験系

試験には、日本チャールス・リバー株式会社厚木飼育センター生産の SPF Crj:CD(SD)IGS ラットを用いた。ラットはこの種の試験で通常用いられている動物種であり、当研究所での使用経験が豊富であることからこの系統を選定した。

雌雄各々 55 匹を 2000 年 6 月 21 日に 8 週齢で購入した。受入時の動物の体重範囲は、雄で 245~276 g、雌で 175~196 g であった。

(2) 検疫および馴化

受入後、個々の動物について 14 日間、一般状態観察を 1 日 1 回、さらに期間中に体重測定を 3 回実施した。雌については馴化期間中に 10 日間の性周期検査を実施した。検疫および馴化期間中、痂皮形成が雄 1 例、瞳孔偏位が雌 1 例および膈の肉柱が雌 2 例に観察された。

(3) 群分け

検疫および馴化期間終了後、健康な動物で、雌については性周期に異常の認められない動物を雌雄各々 48 匹選抜して、10 週齢で試験に供した。検疫および馴化期間最終日 (投与前々日) の体重に基づいて、層化無作為抽出法により各群の平均体重が均一になるように群分けを行った。群分け時の動物の体重範囲は、雄で 335~386 g、雌で 208~249 g であり、平均体重 (雄 360.7 g、雌 229.5 g) の $\pm 20\%$ 以内であった。選抜から外れた動物は試験から除外した。

(4) 動物およびケージの識別

動物は、群分け前は油性フェルトペンで尾部に印を付け、群分け後は耳介に動物番号を入墨し、個体識別を行った。出生児については、哺育 0 日~4 日の間油性フェルトペンで背部にケージ内個体識別番号を記入し、個体識別を行った。飼育ケージは、群分け前は性別毎に色分けしたラベルに試験番号および動物番号を明記し、各ケージの前面に標示した。群分け後は、性別毎に色分けしたラベルに試験番号、試験群および動物番号を明記し、各ケージの前面に標示した。

(5) 動物飼育

1) 飼育環境

動物は温度 $23 \pm 3^{\circ}\text{C}$ (実測範囲 $20 \sim 24^{\circ}\text{C}$)、湿度 $55 \pm 10\%$ (実測範囲 $45 \sim 66\%$)、換気回数 $10 \sim 15$ 回/時間、照明時間 12 時間 (8:00 点灯、20:00 消灯の人工照明) の動物飼育室 (307 号室) で飼育した。動物飼育室の温度および湿度は毎日監視した。

2) 飼育器材および飼育方法

ブラケット式金属製金網床ケージ (300W×410D×200H, mm) に、検疫および馴化期間中は雌雄別に 3 匹以内、群分け後は 1 匹、交配中は雌雄各 1 匹、妊娠期間中は 1 母動物、哺育期間中は 1 腹を収容した。なお、交尾成立雌動物については妊娠 17 日から哺育 4 日まで実験動物用床敷 (ホワイトフレーク、日本チャールス・リバー株式会社) を使用した。ケージおよび給餌器は群分け時に 1 回、その後は 2 週に 1 回交換した。受皿は週 2 回洗浄滅菌済みのものと交換した。自動給水装置の水抜きは週 1 回実施した。動物飼育室内の清掃および清拭消毒は、1 日 1 回実施した。清拭消毒に際しては、塩素系消毒薬およびヨウ素系消毒薬を 1 週間単位で交互に使用した。

3) 飼料

オリエンタル酵母工業株式会社製、 γ 線照射固型飼料 CRF-1 を、金属製給餌器を用いて自由に摂取させた。

試験に悪影響を及ぼす恐れのある汚染物質あるいは微生物の有無を、使用したロット (000302、000405、000509) の飼料について、汚染物質の分析は財団法人日本食品分析センター、また微生物検査はオリエンタル酵母工業株式会社がそれぞれ行った。分析項目と許容基準値は糲化合物安全性研究所の標準操作手順書に準拠した。分析の結果、いずれの項目にも許容基準値を超える値は認められなかった (Appendix 7~12)。

4) 飲料水

札幌市水道水を、自動給水装置を用いて自由に摂取させた。ただし、尿検査時には給水器を使用した。

試験に悪影響を及ぼす恐れのある汚染物質の有無を、2000 年 4 月 12 日、2000 年 7 月 19 日および 2000 年 10 月 18 日に試料を採取して、日本衛生株式会社において分析した。分析項目と許容基準値は糲化合物安全性研究所の標準操作手順書に準拠した。分析の結果、いずれの項目にも許容基準値を超える値は認められなかった (Appendix 13~15)。

(6) 試験群の構成

試験群の構成と各群の動物番号を Table 1 に示す。

(7) 被験物質の投与

1) 投与量の設定

PY53 の投与量は、先に実施した C. I. ピグメントイエロー 53 のラットにおける反復投与

毒性・生殖発生毒性併合試験のための予備試験（試験番号SR-9984P）¹⁾の結果に基づいて設定した。予備試験では、0、500、1000 および 2000 mg/kg の用量で 1 群雌雄各 5 匹の SD 系ラットに 1 日 1 回、14 日間投与した結果、全ての PY53 投与群の雌雄で、一般状態の変化として糞便の黄色または黄褐色化、剖検所見として盲腸内容の黄色または黄緑色化が観察された。しかし、これらの変化は、消化管内で PY53 が内容物を着色したものと考えられ、他の検査項目には異常が認められなかったことから、PY53 投与による影響とは考えられなかった。したがって、反復投与毒性・生殖発生毒性併合試験では、高用量を OECD 試験法ガイドライン（422）で規定された限量である 1000 mg/kg とし、以下、公比 2 で除して 500 および 250 mg/kg を雌雄ともに設定した。そのほかに溶媒である 1% CMC-Na 水溶液のみを同様の方法で投与する対照群を設けた。

2) 投与

PY53 がヒトに経口的に暴露される可能性を考慮し、OECD 試験法ガイドライン (OECD Guideline for Testing of Chemicals ; Combined Repeated Dose Toxicity Study with the Reproduction / Developmental Toxicity Screening Test(422), 22nd March, 1996) に従って、1 日 1 回、雄については交配 14 日前より 46 日間、雌については交配前 14 日間および交尾成立までの交配期間、さらに交尾成立例は妊娠期間および哺育 4 日までの期間、交尾不成立例は交配期間終了後 23 日までの期間、9:38 から 12:25 の間に胃ゾンデを用いて胃内に強制経口投与した。

投与容量は 10 mL/kg とし、各個体の投与液量は投与日に最も近い測定日の体重に基づいて算出した。

(8) 観察、測定および検査項目

I. 雄動物について

1) 一般状態観察

全例について、試験期間中 1 日 1 回の頻度で、動物の生死、行動、外観などを観察した。異常が認められた場合は、その症状ならびに持続期間を記録した。

2) 体重測定

投与開始日を投与 1 日として起算し、全例について、投与 1、2、3、5、7、10 および 14 日、その後は 7 日毎の投与前、投与終了日および剖検日に電子式上皿天秤(ザルトリウス 1401 B MP7-2 あるいは 1407 MP8-1、カールツァイス株式会社)を用いて測定した。

体重増加量および体重増加率を以下の計算式により算出した。

$$\text{体重増加量} = (\text{投与 46 日体重}) - (\text{投与 1 日体重})$$

$$\text{体重増加率} = (\text{体重増加量} / \text{投与 1 日体重}) \times 100$$

3) 摂餌量測定

全例について、交配期間および剖検日を除き、体重測定日と同じ日に実施した。各測定

日に、電子式上皿天秤（ザルトリウス 1401 B MP7-2 あるいは 1407 MP8-1、カールツァイス株式会社）を用いて各ケージの給与量と残量を測定した。飼料消費量を給与日数で除し、各測定日間の 1 匹当りの 1 日の平均摂餌量 (g/rat/day) を算出した。ただし、投与 1 日の摂餌量は、投与開始前日からの 1 日量とした。

4) 尿検査

投与期間の最終週(投与 44~45 日)に、各群 6 例について非絶食下でラット用代謝ケージ(KN-646 B-1 型、株式会社夏目製作所)を用いて採尿し、約 3 時間の蓄尿で①~⑨を、また、約 21 時間の蓄尿で⑩および⑪の項目の検査を行った。また、採尿中の飲水量を測定した。

検査項目および検査方法：

① pH	試験紙法 (マルティスティックス、バエル メディカル株式会社)
②蛋白 (Pro)	試験紙法 (マルティスティックス、バエル メディカル株式会社)
③糖 (Glu)	試験紙法 (マルティスティックス、バエル メディカル株式会社)
④ケトン体 (Ket)	試験紙法 (マルティスティックス、バエル メディカル株式会社)
⑤ウロビリノーゲン (Uro)	試験紙法 (マルティスティックス、バエル メディカル株式会社)
⑥ビリルビン (Bil)	試験紙法 (マルティスティックス、バエル メディカル株式会社)
⑦潜血反応 (Occult blood)	試験紙法 (マルティスティックス、バエル メディカル株式会社)
⑧沈渣 (Urinary Sediments)	鏡検
⑨色調 (Color)	肉眼観察
⑩尿量 (U-Vol)	容量測定
⑪比重 (Specific gravity)	屈折計法 (尿比重屈折計コロン-S、アコ)
⑫採尿中の飲水量 (Water consumption)	給水瓶の重量測定による

5) 血液学的検査

全例について、投与 46 日の翌日の剖検時に約 16~22 時間絶食したラットをエーテル麻酔し、腹部大動脈から採血した。①~⑩については EDTA・2K (ベノジェクト II 真空採血管、テルモ株式会社) で処理した血液約 1 mL を用い、⑪および⑫については 3.8% クエン酸ナトリウムで処理した血液約 1~2 mL を 3000 rpm で 10 分間の遠心分離で得られた血漿を用いた。なお、得られた血液および血漿は検査終了後、廃棄した。

検査項目および検査方法：

①赤血球数 (RBC)	電気抵抗法 (自動血球計数装置 F-820、シスメックス)
②ヘマトクリット値 (Ht)	電気抵抗法 (自動血球計数装置 F-820、シスメックス)
③ヘモグロビン量 (Hb)	シアンメトヘモグロビン法 (自動血球計数装置 F-820、シスメックス)

④平均赤血球容積(MCV)	RBC, Ht 値より算出 (自動血球計数装置 F-820、シスメックス)
⑤平均赤血球ヘモグロビン量(MCH)	RBC, Hb 値より算出 (自動血球計数装置 F-820、シスメックス)
⑥平均赤血球ヘモグロビン濃度(MCHC)	Ht, Hb 値より算出 (自動血球計数装置 F-820、シスメックス)
⑦網赤血球数(Ret)	Brecher 法(鏡検)
⑧血小板数(Plat)	電気抵抗法(自動血球計数装置 F-820、シスメックス)
⑨白血球数(WBC)	電気抵抗法(自動血球計数装置 F-820、シスメックス)
⑩白血球百分比(Hemogram of WBC)	May-Grünwald-Giemsa 染色(鏡検)
⑪プロトロンビン時間(PT)	トロンボプラスチン法 (血液凝固自動測定装置アメルグ KC-10A、バクスター)
⑫活性化部分トロンボプラスチン時間(APTT)	エラジン酸法 (血液凝固自動測定装置アメルグ KC-10A、バクスター)

6) 血液化学的検査

全例について、剖検時に約 16~22 時間絶食したラットをエーテル麻酔し、腹部大動脈より採血した。①および⑤については血液 1 mL 当り約 20 単位のヘパリンナトリウム(ヘパリンナトリウム注、1000 単位/mL、持田製薬株式会社)で処理後、3000 rpm で 10 分間の遠心分離で得られた血漿を用いて検査した。他の項目については分離剤入り試験管(セパクリーン、栄研器材株式会社)に血液を採取し、3000 rpm で 10 分間の遠心分離で得られた血清を用いて検査した。なお、得られた血漿および血清は検査終了後、-20°C で凍結保存した。

検査項目および検査方法：

① GOT	IFCC 法(自動分析装置 7150 形、日立製作所)
② GPT	IFCC 法(自動分析装置 7150 形、日立製作所)
③ アルカリホスファターゼ(ALP)	Bessey-Lowry 法 (自動分析装置 7150 形、日立製作所)
④ γ -GTP	包接 L- γ -グルタミル-p-ニトロアニリド基質法 (自動分析装置 7150 形、日立製作所)
⑤ グルコース(Glu)	ヘキシキナーゼ法 (自動分析装置 7150 形、日立製作所)
⑥ コリンエステラーゼ(ChE)	ヨウ化ブチリルチオコリン基質法 (自動分析装置 7150 形、日立製作所)

⑦総コレステロール(T-Cho)	酵素法(自動分析装置 7150 形、日立製作所)
⑧リン脂質(PL)	酵素法(自動分析装置 7150 形、日立製作所)
⑨トリグリセリド(TG)	遊離グリセロール消去法 (自動分析装置 7150 形、日立製作所)
⑩総ビリルビン(T-Bil)	アゾビリルビン法 (自動分析装置 7150 形、日立製作所)
⑪尿素窒素(UN)	ウレアーゼ・インドフェノール法 (自動分析装置 7150 形、日立製作所)
⑫クレアチニン(Crea)	Jaffé法(自動分析装置 7150 形、日立製作所)
⑬ナトリウム(Na)	炎光光度法(自動炎光光度計 480 型、コーニング)
⑭カリウム(K)	炎光光度法(自動炎光光度計 480 型、コーニング)
⑮クロール(Cl)	電量滴定法 (クロライドカウンターCL-6M、平沼産業)
⑯カルシウム(Ca)	OCPC 法(自動分析装置 7150 形、日立製作所)
⑰無機リン(IP)	Fiske-SubbaRow 法 (自動分析装置 7150 形、日立製作所)
⑱総蛋白(TP)	ビウレット法 (自動分析装置 7150 形、日立製作所)
⑲蛋白分画(Protein fraction)	セルロースアセテート膜電気泳動法 (全自動電気泳動装置 CTE-150、常光)
⑳A/G 比(A/G)	セルロースアセテート膜電気泳動法 (全自動電気泳動装置 CTE-150、常光)

7) 剖検

全例について、投与 46 日の翌日に剖検した。体外表を観察し、エーテル麻酔下で採血後、放血致死させ、全身の器官・組織を肉眼的に観察した。以下の器官・組織を 10% 中性緩衝ホルマリン液に固定・保存し、左肺については注入固定を行った。なお、眼球およびハーダー腺はデビッドソン液で固定・保存し、精巣および精巣上体はブアン液で固定後 70% エタノールに保存した。

脳(大脳・小脳)、下垂体、胸腺、甲状腺(左右)、上皮小体(左右)、副腎(左右)、脾臓、心臓、胸部大動脈、舌、食道、胃(前胃および腺胃)、肝臓、膵臓、十二指腸、空腸、回腸(パイエル板含む)、盲腸、結腸、直腸、喉頭、気管、肺(気管支含む)、腎臓(左右)、膀胱、精巣(左右)、精巣上体(左右)、前立腺、精囊(凝固腺含む、左右)、眼球(左右)、ハーダー腺(左右)、皮膚(右腹部)、胸骨(骨髄含む)、大腿骨(骨髄含む、右)、脊髓(頸部)、骨格筋(右大腿部)、腸間膜リンパ節、下顎リンパ節(左右)、顎下腺(左右)、舌下

腺(左右)、耳下腺(左右)および坐骨神経(右)。

8) 器官重量測定

全例について、剖検時に電子式上皿天秤(ER-180A、エー・アンド・デイ株式会社)を用いて以下の器官について重量を測定した。なお、左右の表示のある器官については、左右別々に測定し、その合計値を算出した。

脳、心臓、肝臓、腎臓(左右)、脾臓、副腎(左右)、胸腺、精巣(左右)および精巣上体(左右)

個々の器官重量と剖検日に測定した動物体重に基づいて、器官体重重量比を以下の計算式により算出した。

$$\text{器官体重重量比} = (\text{器官重量} / \text{動物体重}) \times 100$$

9) 病理組織学的検査

対照群および最高用量群の全例の保存器官・組織ならびに肉眼的異常部位について、パラフィン包埋後薄切し、ヘマトキシリン・エオジン染色標本を作製して鏡検した。

II. 雌動物について

1) 一般状態観察

全例について、試験期間中1日1回の頻度で、視診および触診により行動、外観などを観察した。

2) 体重測定

投与開始日を投与1日、交尾成立日を妊娠0日および分娩終了日を哺育0日として起算し、投与1、2、5、7、10および14日の投与前、さらに交尾成立例については妊娠0、1、3、5、7、10、14、17および20日、哺育0、1および4日の投与前ならびに哺育4日の翌日(剖検日)に、交尾不成立例については投与28、35、42および49日の投与前および51日の翌日(剖検日)に電子式上皿天秤(ザルトリウス 1401 B MP7-2 あるいは 1407 MP8-1、カールツァイス株式会社)を用いて測定した。交配期間中(雄との同居中)は投与液量算出のため、相手雄の測定日と同じ日に測定した。

体重増加量および体重増加率を以下の計算式により算出した。

$$\text{妊娠前投与期間体重増加量} = (\text{投与14日体重}) - (\text{投与1日体重})$$

$$\text{妊娠期間体重増加量} = (\text{妊娠20日体重}) - (\text{妊娠0日体重})$$

$$\text{哺育期間体重増加量} = (\text{哺育4日体重}) - (\text{哺育0日体重})$$

$$\text{体重増加率} = (\text{体重増加量} / \text{投与1日、妊娠0日あるいは哺育0日体重}) \times 100$$

3) 摂餌量測定

全例について、交配期間および剖検日を除き、体重測定日と同じ日に実施した。各測定日に、電子式上皿天秤(ザルトリウス 1401 B MP7-2 あるいは 1407 MP8-1、カールツァイ

ス株式会社)を用いて各ケージの給与量と残量を測定した。飼料消費量を給与日数で除し、各測定日間の1匹当りの1日の平均摂餌量(g/rat/day)を算出した。ただし、投与1日の摂餌量は、投与開始前日からの1日量とした。

4) 血液学的検査

哺育母動物各群6例について、分娩後5日(哺育4日の翌日)に約16~18時間絶食したラットをエーテル麻酔し、腹部大動脈から採血した。血漿分離方法、検査項目および検査方法は雄動物の方法に準じた。なお、得られた血液および血漿は検査終了後、廃棄した。

5) 血液化学的検査

哺育母動物各群6例について分娩後5日(哺育4日の翌日)の剖検時に約16~18時間絶食したラットをエーテル麻酔し、腹部大動脈より採血した。血清・血漿分離方法、検査項目および検査方法は雄動物の方法に準じた。なお、得られた血漿および血清は検査終了後、-20℃で凍結保存した。

6) 剖検

分娩例は分娩後5日(哺育4日の翌日)に、交尾不成立例は交配期間終了後24日(投与51日の翌日)に、妊娠25日まで分娩が認められない交尾成立例は妊娠26日に剖検した。体外表を観察し、分娩例のうち血液学的検査および血液化学的検査例については採血後、エーテル麻酔下で放血致死させ、全身の器官・組織を肉眼的に観察した。以下の器官・組織を10%中性緩衝ホルマリン液に固定・保存した。なお、眼球およびハーダー腺はデビッドソン液で固定・保存した。

脳(大脳・小脳)、下垂体、胸腺、甲状腺(左右)、上皮小体(左右)、副腎(左右)、脾臓、心臓、胸部大動脈、舌、食道、胃(前胃および腺胃)、肝臓、膵臓、十二指腸、空腸、回腸(パイエル板含む)、盲腸、結腸、直腸、喉頭、気管、肺(気管支含む)、腎臓(左右)、膀胱、卵巣(左右)、子宮(左右角部および頸部)、膾、眼球(左右)、ハーダー腺(左右)、乳腺(右腹部)、皮膚(右腹部)、胸骨(骨髄含む)、大腿骨(骨髄含む、右)、脊髄(頸部)、骨格筋(右大腿部)、腸間膜リンパ節、下顎リンパ節(左右)、顎下腺(左右)、舌下腺(左右)、耳下腺(左右)、坐骨神経(右)、肉眼的異常部位として脱毛のみられた動物番号156(対照群)の前肢(左右)、胸部および鼠径部(右)の皮膚。

7) 器官重量測定

全例について、剖検時に電子式上皿天秤(ER-180A、エー・アンド・デイ株式会社)を用いて以下の器官について重量を測定した。左右の表示のある器官については、左右別々に測定し、その合計値を算出した。なお、分娩後5日に剖検した母動物について統計処理を実施した。

脳、心臓、肝臓、腎臓(左右)、脾臓、副腎(左右)、胸腺および卵巣(左右)

個々の器官重量と剖検日に測定した動物体重に基づいて、器官重量重量比を以下の計算式により算出した。

$$\text{器官重量重量比} = (\text{器官重量} / \text{動物体重}) \times 100$$

8) 病理組織学的検査

対照群および最高用量群の全例の保存器官・組織ならびに肉眼的異常部位について、パラフィン包埋後薄切し、ヘマトキシリン・エオジン染色標本を作製して鏡検した。

Ⅲ. 雌雄動物の生殖および新生児の発生について

1) 性周期検査

雌全例について、投与前 10 日から交尾成立までの連日、ギムザ染色による膣垢塗抹標本を作製し、光学顕微鏡下で性周期段階(発情前期、発情期、発情後期、発情休止期)の判定を行い、性周期の各段階を 4 日から 5 日の間隔で 2 回以上繰り返すものを正常と判定した。発情休止期が 7 日以上継続してみられる場合に性周期の異常と判定した。各雌の性周期から発情期間隔を算出した。

2) 雌雄の生殖能検査

投与 14 日の夕方から、同試験群内の雌雄を 1 対 1(無作為組み合わせ)で 14 日間を限度として同居させた。交尾の成立は、膣内または受皿上に落下した膣栓、あるいは膣垢スメア標本中の精子が確認された場合とし、いずれかが認められた日を妊娠 0 日とした。妊娠成立の確認を、分娩の有無および剖検時に子宮内の着床痕の有無を調べることによって行った。交尾率(%) [(交尾成立動物数 / 同居させた動物数) × 100] および受胎率(%) [(妊娠動物数 / 交尾成立動物数) × 100] を算出した。

3) 分娩および哺育状態観察

交尾確認雌動物は全例自然分娩させた。分娩状態を、妊娠 21 日から 25 日まで毎日少なくとも 3 回 (9:00、13:00 および 17:00) 観察した。9:00 に母動物が児を巣の中に集めて腹の下に抱え込んでいるのを観察することによって分娩終了を確認し、その日を哺育 0 日とした。哺育 0 日に、腹毎に生存児数および死亡児数を数え、哺育状態、出産児の性別および外表を観察した。難産などの分娩異常はいずれの動物にもみられなかった。生存児数および死亡児数の合計を出産児数とした。児動物の性は、肛門と生殖突起の間の長さで判定した。剖検時に各雌の卵巣の黄体数および子宮内の着床痕の数を肉眼的に数えて記録した。

妊娠期間[妊娠 0 日(交尾成立日)から哺育 0 日(分娩終了日)までの日数]、出産率(%) [(生児出産雌数 / 妊娠雌数) × 100]、分娩率(%) [(出産児数 / 着床数) × 100]、着床率(%) [(着床数 / 黄体数) × 100]、出生率(%) [(出産時生存児数 / 出産児数) × 100]、哺育 4 日時哺育率(%) [(哺育 4 日に生存哺育児の認められる雌数 / 生児出産雌数) × 100] および性比[雄出

産児数／出産児数]を算出した。

4) 新生児の一般状態観察および生存率

全例について、哺育0日から哺育4日まで1日1回、生存および死亡を確認し、一般状態および外表について観察した。

観察結果から新生児生存率 [(哺育4日生存児数／出産時生存児数)×100]を1腹を単位として算出した。ただし、喰殺あるいは行方不明となった新生児は死亡例として扱った。

5) 新生児の体重測定

全例について、哺育0、1および4日に電子式上皿天秤(ザルトリウス 1401 B MP7-2、カールツァイス株式会社)を用いて個体毎に測定した。腹毎に雌雄別の平均体重を求めた。体重増加量および体重増加率を以下の計算式により算出した。

$$\text{哺育期間体重増加量} = (\text{哺育4日体重}) - (\text{哺育0日体重})$$

$$\text{哺育期間体重増加率} = (\text{哺育期間体重増加量} / \text{哺育0日体重}) \times 100$$

6) 新生児の剖検

死亡例は発見後速やかに剖検し、whole body を10%中性緩衝ホルマリン液で固定・保存した。生存例については、哺育4日に体外表(口腔内を含む)を観察後、二酸化炭素吸入法により安楽死させ、全身の器官・組織を肉眼的に観察した。異常が認められた個体は、Whole body を10%中性緩衝ホルマリン液で固定・保存した。

5. 統計学的方法

体重、体重増加量および体重増加率、摂餌量、尿検査の定量的項目(尿比重を除く)、血液学的検査および血液化学的検査の各項目、器官重量、器官体重重量比、黄体数、着床数および着床率、出産児数、出産時生存児数、分娩率、出生率、出産時死亡児数、性比、妊娠期間、哺育4日生存児数および新生児生存率については、まず Bartlett の検定法を行い、等分散性を解析した(有意水準5%)。その結果、各群の分散が等しい場合は、一元配置分散分析法を用いて群間の有意差の有無を調べ(有意水準10%)、群間に有意差が認められた場合は、Dunnett の検定法を用いて投与群と対照群の間の有意差を判定した(有意水準5%および1%)。一方、各群の分散が等しくない場合は、Kruskal-Wallis の順位和検定法を用いて群間の有意差の有無を調べ(有意水準10%)、群間に有意差が認められた場合は、Mann-Whitney のU検定法を用いて投与群と対照群の間の有意差を判定した(有意水準5%および1%)。なお、新生児の出生率、性比、新生児生存率および雌雄別体重は、1腹を標本単位として処理した。

尿検査の定性的項目および尿比重ならびに病理組織学的検査結果のうち2段階以上の陽性グレードがみられた所見についてはKruskal-Wallis の順位和検定法で解析し(有意水準10%)、有意差がみられた場合は、Mann-Whitney のU検定法を用いて対照群との比較を行った(有意水準5%および1%)。

性周期の異常の有無、交尾率、受胎率、出産率、哺育4日時哺育率、ならびに病理組織学的検査結果のうち1段階の陽性グレードがみられた所見については多試料 χ^2 -検定を行い(有意水準10%)、その結果、有意差がみられた場合は2試料 χ^2 -検定で対照群との比較を行った。ただし、2試料 χ^2 -検定あるいは多試料 χ^2 -検定に不適合の場合はFisherの正確確率検定法を用いた(有意水準5%および1%)。

なお、被験物質投与群と対照群の比較検定については群の平均および標準偏差を使用した。

成績

1. 雄動物の反復投与毒性

(1) 一般状態

一般状態の成績をTable 2、INDIVIDUAL DATA 1-1~1-4に示す。

投与2日以降剖検日まで500 mg/kg群で黄褐色便、1000 mg/kg群で黄色または黄褐色便がそれぞれ12例全例に観察された。しかし、便のその他の性状には異常はなかった。その他に、250 mg/kg群で切歯破折が投与42日に1例観察されたが、ケージ内の事故によるものと考えられた。

(2) 体重推移

体重推移をFigure 1、Table 3、INDIVIDUAL DATA 2-1~2-4に示す。

試験期間中の体重、体重増加量および体重増加率は、いずれのPY53投与群においても対照群と比較して有意な差は認められなかった。

(3) 摂餌量

摂餌量をFigure 2、Table 4、INDIVIDUAL DATA 3-1~3-4に示す。

試験期間中の摂餌量は、いずれのPY53投与群においても対照群と比較して有意な差は認められなかった。

(4) 尿検査

尿検査の成績をTable 5、INDIVIDUAL DATA 4-1~4-4に示す。

250 mg/kg群で尿比重の有意な上昇がみられたが、500 mg/kg以上の投与群ではみられない変化であった。その他の各検査項目には、PY53投与群と対照群との間に有意差は認められなかった。

(5) 血液学的検査

血液学的検査の成績をTable 6、INDIVIDUAL DATA 5-1~5-8に示す。

250および1000 mg/kg群で活性化部分トロンボプラスチン時間(APTT)の有意な短縮が認められた。

(6) 血液化学的検査

血液化学的検査の成績を Table 7、INDIVIDUAL DATA 6-1~6-8 に示す。

1000 mg/kg 群でカリウム(K)の有意な低値が認められたが、毒性学的意義がないと考えられた。

(7) 剖検

剖検の成績を Table 8、INDIVIDUAL DATA 7-1~7-4 に示す。

盲腸の内容物黄緑色化が、500 mg/kg 群で 1 例、1000 mg/kg 群で 12 例全例に認められた。その他には異常は認められなかった。

(8) 器官重量

器官重量および器官体重重量比の成績を Table 9、INDIVIDUAL DATA 8-1~8-12 に示す。

測定したいずれの器官にも対照群と PY53 投与群の間に有意な差はみられなかった。

(9) 病理組織学的検査

病理組織学的検査の成績を Table 10、INDIVIDUAL DATA 9-1-1~9-2-2 に示す。

対照群では、心臓の心筋変性、腎臓の硝子円柱、近位尿細管上皮の好酸性小体、精巣の精細管の萎縮および精巣上体の精子肉芽腫が各 1 例、ならびに前立腺のリンパ球浸潤が 6 例みられた。1000 mg/kg 群では、心臓の心筋変性が 3 例、腎臓の近位尿細管上皮の好酸性小体が 1 例、精巣の精細管の萎縮が 3 例、精巣上体の管腔内細胞残屑が 1 例および前立腺のリンパ球浸潤が 4 例みられた。

以上の変化はいずれもその出現頻度に対照群と比較して有意な差は認められなかった。

2. 雌動物の反復投与毒性

(1) 一般状態

一般状態の成績を Table 11、INDIVIDUAL DATA 10-1~12-4 に示す。

投与 2 日以降剖検日まで 500 mg/kg 群で黄褐色便、1000 mg/kg 群で黄色または黄褐色便が 12 例全例に観察された。その他に、対照群の 1 例に脱毛が妊娠 12 日以降剖検日(分娩後 5 日)まで認められた。250 mg/kg 群で背部痂皮形成および 500 mg/kg 群で下眼瞼の外傷および痂皮形成がそれぞれ 1 例みられたが、PY53 投与による影響ではないと考えられた。

(2) 体重推移

体重推移を Figure 3~5、Table 12~14、INDIVIDUAL DATA 13-1~15-4 に示す。

妊娠前投与期間、妊娠期間および哺育期間のいずれの期間にも、各 PY53 投与群と対照群の間に有意な差は認められなかった。

(3) 摂餌量

摂餌量の変化を Figure 6~8、Table 15~17、INDIVIDUAL DATA 16-1~18-4 に示す。

妊娠前投与期間、妊娠期間および哺育期間のいずれの期間にも、各 PY53 投与群と対照群の間に有意な差は認められなかった。

(4) 血液学的検査

血液学的検査の成績を Table 18、INDIVIDUAL DATA 19-1~19-8 に示す。

250 mg/kg 群で平均赤血球ヘモグロビン量(MCH)および血小板の有意な高値が認められたが、500 mg/kg 以上の投与群ではみられない変化であった。

(5) 血液化学的検査

血液化学的検査の成績を Table 19、INDIVIDUAL DATA 20-1~20-8 に示す。

対照群と比較して、250 mg/kg 群でコリンエステラーゼ (ChE) の有意な低値、500 mg/kg 群でナトリウム (Na) の有意な低値、1000 mg/kg 群で GPT の有意な低値が認められたが、いずれも関連項目に変化がみられないため、PY53 投与との関連性はないものと考えられた。

(6) 剖検

剖検の成績を Table 20、INDIVIDUAL DATA 21-1~21-4 に示す。

対照群では腎盂拡張と脱毛が各 1 例観察された。500 mg/kg 群では盲腸の内容物黄緑色化が 4 例観察された。1000 mg/kg 群では、胃および盲腸の内容物黄色化が 1 例、盲腸の内容物黄緑色化が 8 例認められた。胃および盲腸の内容物黄色化がみられた例は、妊娠の証拠が得られなかった動物で、子宮に黄白色液体貯留ならびに膣閉鎖および黄白色液体貯留も観察された。

(7) 器官重量

器官重量および器官体重重量比の成績を Table 21、INDIVIDUAL DATA 22-1~22-8 に示す。

500 mg/kg 群で右側副腎の器官体重重量比の有意な低値がみられたが、左右の合計では有意な差はみられなかったことから偶発的な変動と考えられた。その他には測定したいずれの器官にも対照群と PY53 投与群の間に有意な差はみられなかった。

(8) 病理組織学的検査

病理組織学的検査の成績を Table 22、INDIVIDUAL DATA 23-1-1~23-2-2 に示す。

対照群では舌のびらんが 3 例、ならびに肝臓の限局性壊死、腎臓の嚢胞、腎盂拡張、尿細管の拡張、腎臓の限局性線維化、腎臓の皮髄境界部における鈣質沈着、子宮頸部の肉芽腫、胸腺の萎縮、皮膚毛嚢の萎縮および乳腺の炎症が各 1 例みられた。1000 mg/kg 群では、舌のびらんが 1 例および腎臓の皮髄境界部における鈣質沈着が 3 例観察された。また、剖検で膣の閉鎖がみられた 1 例（不妊例）に、膣の閉鎖および子宮角部の炎症が観察され、膣の閉鎖については先天的な異常であり、不妊の原因と考えられた。

以上の変化はいずれもその出現頻度に対照群と比較して有意な差は認められなかった。

3. 雌雄動物の生殖毒性および新生児の発生毒性

(1) 生殖能検査

生殖能検査の成績を Table 23、INDIVIDUAL DATA 24-1~25-4 に示す。

正常性周期を示す雌の出現率、発情期間隔、交尾率、受胎率、出産率、妊娠期間および哺育4日時哺育率には各投与群とも対照群と比較して有意差は認められなかった。交尾不成立が250および500 mg/kg 群でそれぞれ1組に認められた。これらの組の雌の性周期検査で交配中に発情休止期の連続が認められたが、1000 mg/kg 群ではみられなかったことから、PY53 投与による影響とは考えられなかった。不妊例は1000 mg/kg 群で1例認められた。この例は、病理学的検査で先天的な異常である膈の閉鎖が観察され、不妊の原因であると考えられた。

(2) 妊娠、分娩、哺育状態および新生児生存率

妊娠、分娩、哺育状態および新生児生存率の成績を Table 24、INDIVIDUAL DATA 26-1~26-4 に示す。

黄体数、着床数、着床率、総出産児数、出産児の性比、哺育0日の生存児数、出生率、哺育4日の生存児数、新生児生存率には、各PY53投与群とも対照群と比較して有意差は認められなかった。分娩率が250 mg/kg 群で有意に低下したが、500 mg/kg 以上の投与群では有意な差がみられなかったことから、偶発的な変動と考えられた。

(3) 新生児の一般状態

新生児の一般状態の成績を Table 25、INDIVIDUAL DATA 27-1~27-4 に示す。

分娩終了確認時の死亡児が対照群で雌1例、500 mg/kg 群で雄2例、雌3例、1000 mg/kg 群で雄2例に認められた。哺育4日までの期間の死亡あるいは不明例が対照群で雄2例、雌1例、1000 mg/kg 群で雄3例、雌1例に認められた。

生存例では腹部外傷が500 mg/kg 群で雌1例に認められたのみであった。

(4) 新生児の体重推移

新生児の体重推移を Figure 9、Table 26、INDIVIDUAL DATA 28-1~28-4 に示す。

各PY53投与群とも対照群と比較して有意差は認められなかった。

(5) 新生児の剖検

新生児の剖検の成績を Table 27、INDIVIDUAL DATA 29-1~29-3-4 に示す。

死亡例では痂皮が1000 mg/kg 群の雄1例にみられた他は、いずれの例にも異常は認められなかった。

哺育4日剖検例では肝臓の黄白色部が250 mg/kg 群の雌1例および1000 mg/kg 群の雄1例、一般状態観察でみられた500 mg/kg 群の外傷が雌1例に認められたが、その他に異常は認められなかった。

考 察

PY53 の 0(対照群)、250、500 および 1000 mg/kg を 1 群雌雄各 12 匹の Crj:CD(SD) IGS ラットに、雄ラットに対しては交配前、交配期間および交配後を含む計 46 日間、雌ラットに対しては交配前、交配および妊娠期間、ならびに哺育 4 日までの期間、経口反復投与し、雌雄動物への反復投与による影響、雌雄動物の生殖および新生児の発生に及ぼす影響について検討した。

1. 反復投与毒性

500 および 1000 mg/kg 群で、雌雄とも一般状態の変化として糞便の黄色または黄褐色化、剖検所見として盲腸の内容物黄緑色化が観察された。しかし、これらの変化は、大量投与された性状が黄色である PY53 が、消化管の内容物を着色したものであり、PY53 投与による消化器等への器質的または機能的影響によるものではないと考えられた。

体重推移、摂餌量および尿検査では、雌雄ともいずれの投与群においても PY53 投与による影響は認められなかった。

血液学的検査および血液化学的検査では、1000 mg/kg 群において雄で活性化部分トロンボプラスチン時間(APTT)の有意な短縮、雌で GPT の有意な低値がみられた。しかし、APTT の短縮については、臨床的意義が乏しいこと、肝機能あるいは血小板に異常なく凝固系因子の活性化を示唆するような所見はみられないことから、毒性学的意義のない変化と考えられた。一方、GPT の低値についてもその臨床的意義が乏しいこと、雄に変化はなく被験物質の測定系への干渉による低下は考えられないことから、偶発的変化であり、PY53 投与による影響とは考えられなかった。

器官重量には、雌雄ともいずれの投与群においても PY53 投与による影響は認められなかった。

病理組織学的検査の結果、雌雄ともいずれの投与群においても PY53 投与による影響は認められなかった。

以上のことから、各投与群の雌雄とも PY53 の反復投与による影響は認められなかった。したがって、本試験条件下における PY53 の無影響量(NOEL)は雌雄とも 1000 mg/kg/day 以上であると考えられた。

2. 生殖発生毒性

生殖能検査では、各投与群とも雌の性周期、雌雄の交尾率、受胎率、出産率、妊娠期間および哺育 4 日時哺育率に変化はみられず、生殖器(精巣、精巣上体および卵巣)および内分泌器官(副腎)の重量ならびに剖検に変化は認められなかった。また、1000 mg/kg 群の生殖器の病理組織学的検査でも異常は認められなかった。

母動物の黄体数、着床数、着床率、総出産児数、出産児の性比、哺育0日の生存児数、出生率、哺育4日の生存児数、新生児生存率には、PY53投与による影響は認められなかった。

新生児の一般状態、体重および剖検では、各投与群とも影響は認められなかった。

以上のことから、雌雄の生殖および新生児に各投与群とも PY53 投与による影響は認められなかった。したがって、本試験条件下における PY53 の反復投与による親動物の生殖に対する無影響量(NOEL)ならびに新生児の発生に対する無影響量(NOEL)は 1000 mg/kg/day 以上と考えられた。

参考文献

- 1) C.I. ピグメントイエロー 53 のラットにおける反復投与毒性・生殖発生毒性併合試験のための予備試験(SR-9984P)：最終報告書、株式会社 化合物安全性研究所(2000)

Figures

- Figure 1 Body weight changes of male rats dosed orally with C.I. Pigment Yellow 53 (PY53) in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test (SR-9984)
- Figure 2 Food consumption of male rats dosed orally with C.I. Pigment Yellow 53 (PY53) in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test (SR-9984)
- Figure 3 Body weight changes before gestation period of female rats dosed orally with C.I. Pigment Yellow 53 (PY53) in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test (SR-9984)
- Figure 4 Body weight changes during gestation period of female rats dosed orally with C.I. Pigment Yellow 53 (PY53) in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test (SR-9984)
- Figure 5 Body weight changes during lactation period of female rats dosed orally with C.I. Pigment Yellow 53 (PY53) in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test (SR-9984)
- Figure 6 Food consumption before gestation period of female rats dosed orally with C.I. Pigment Yellow 53 (PY53) in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test (SR-9984)
- Figure 7 Food consumption during gestation period of female rats dosed orally with C.I. Pigment Yellow 53 (PY53) in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test (SR-9984)
- Figure 8 Food consumption during lactation period of female rats dosed orally with C.I. Pigment Yellow 53 (PY53) in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test (SR-9984)
- Figure 9 Body weight changes of pups in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of C.I. Pigment Yellow 53 (PY53) in rats (SR-9984)

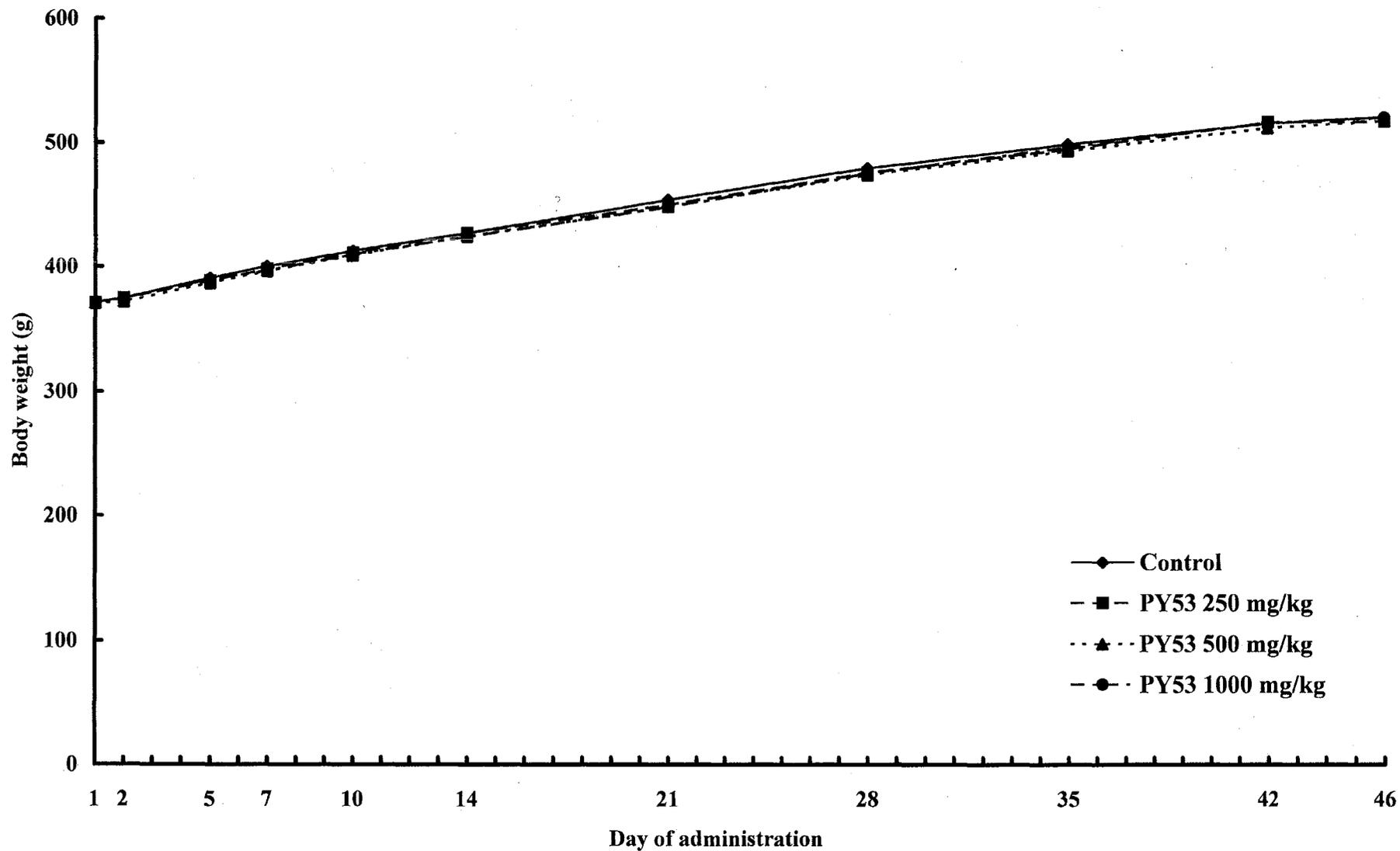


Figure 1 Body weight changes of male rats dosed orally with C.I. Pigment Yellow 53 (PY53) in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test (SR-9984)

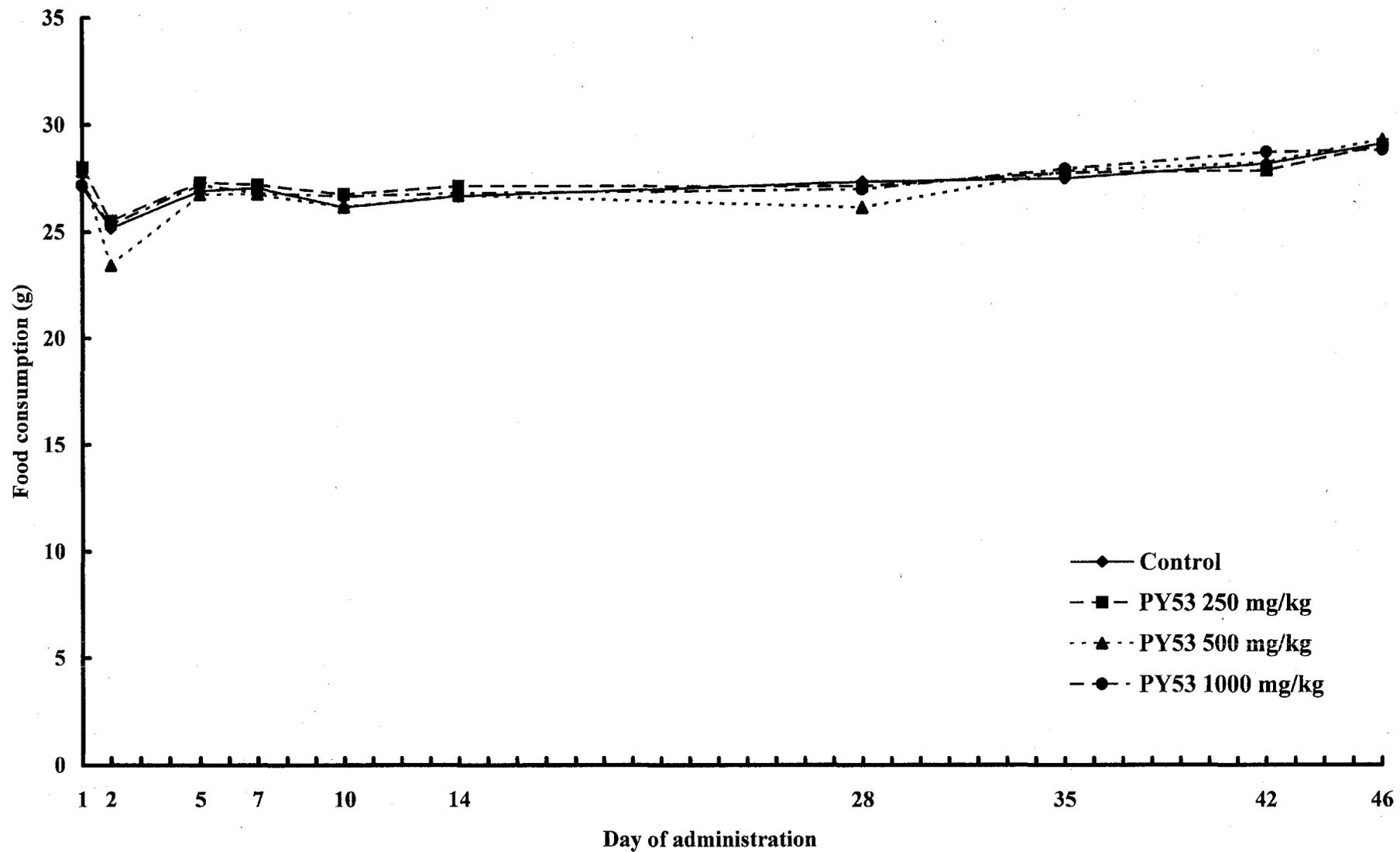


Figure 2 Food consumption of male rats dosed orally with C.I. Pigment Yellow 53 (PY53) in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test (SR-9984)

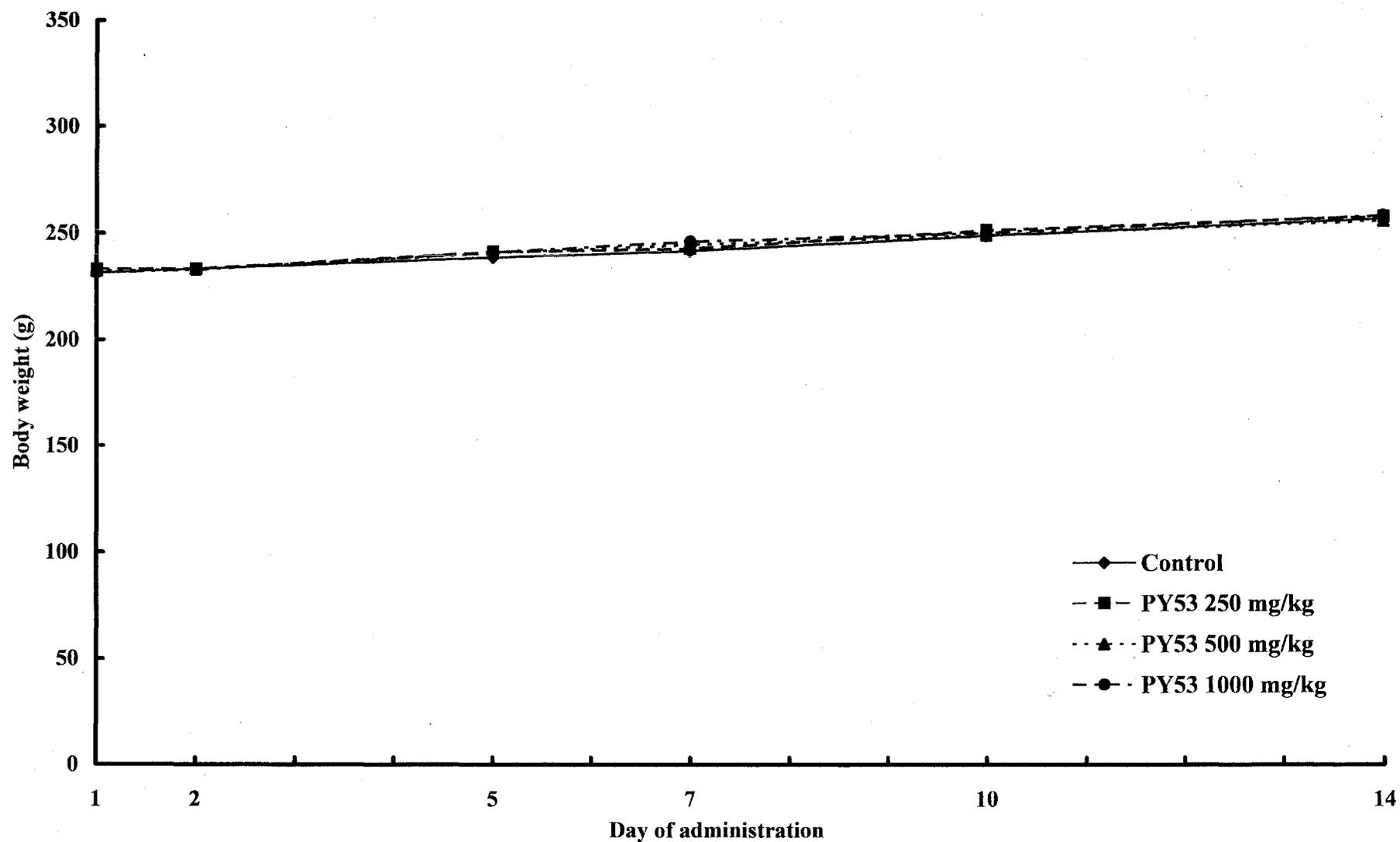


Figure 3 Body weight changes before gestation period of female rats dosed orally with C.I. Pigment Yellow 53 (PY53) in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test (SR-9984)

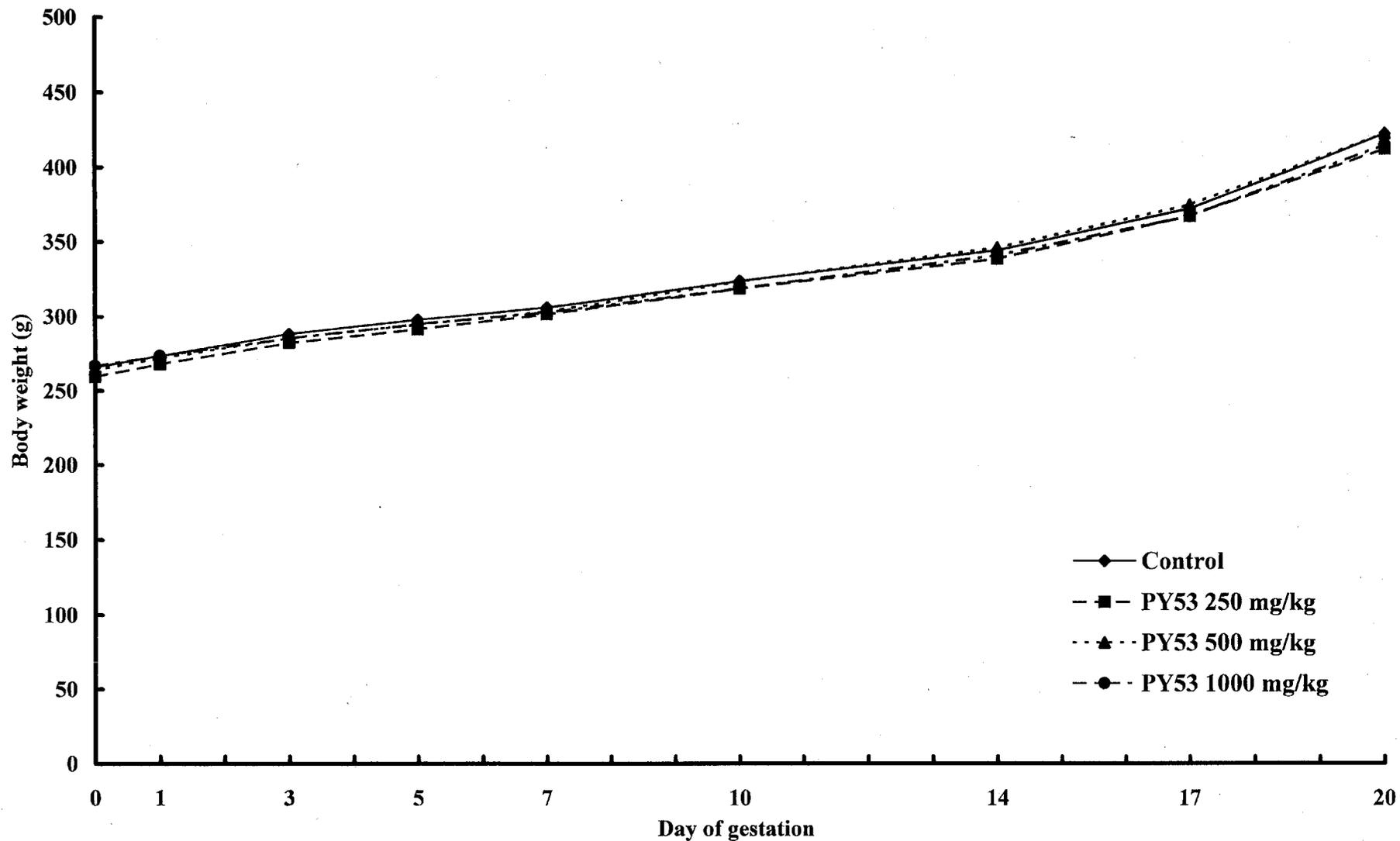


Figure 4 Body weight changes during gestation period of female rats dosed orally with C.I. Pigment Yellow 53 (PY53) in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test (SR-9984)

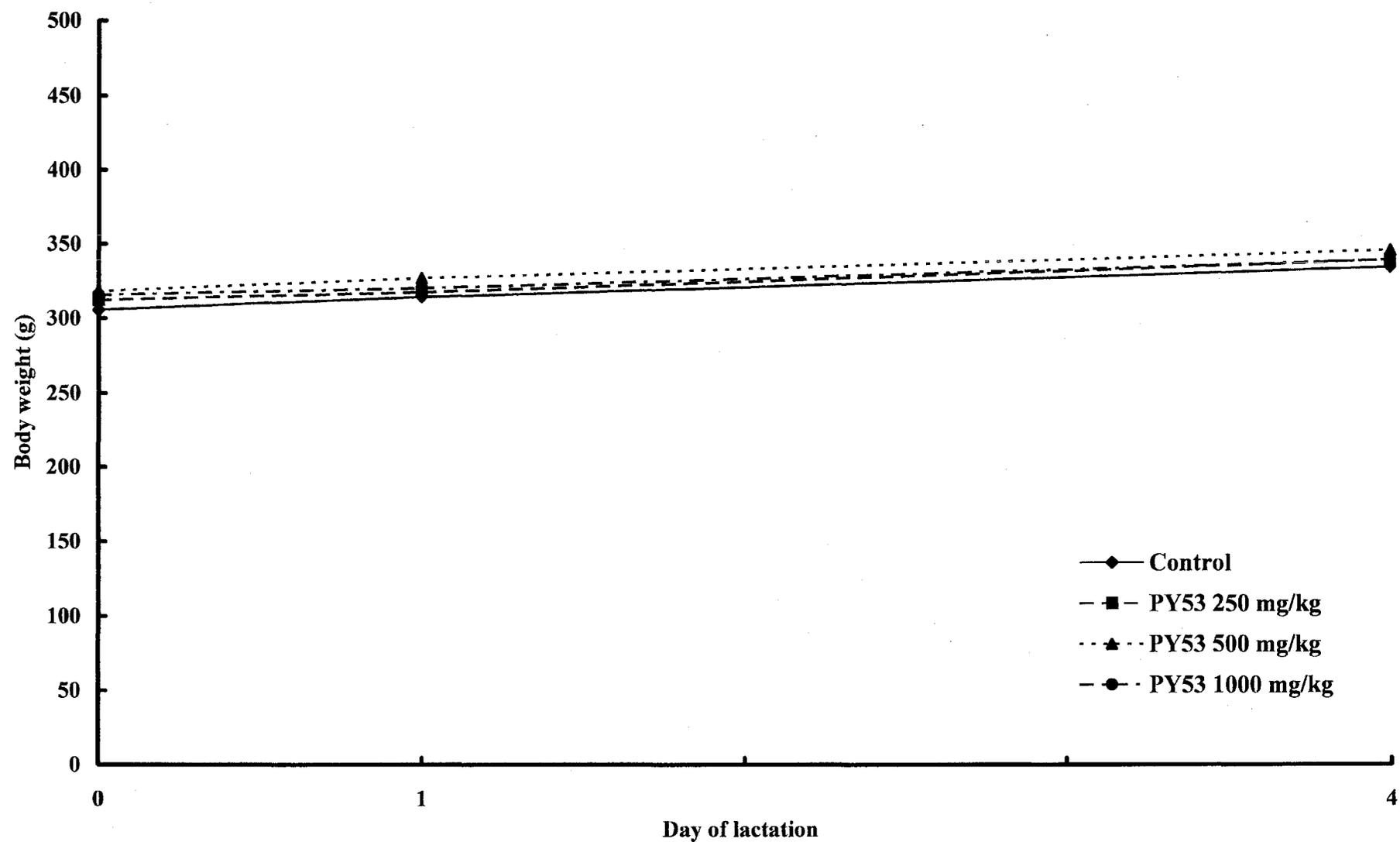


Figure 5 Body weight changes during lactation period of female rats dosed orally with C.I. Pigment Yellow 53 (PY53) in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test (SR-9984)

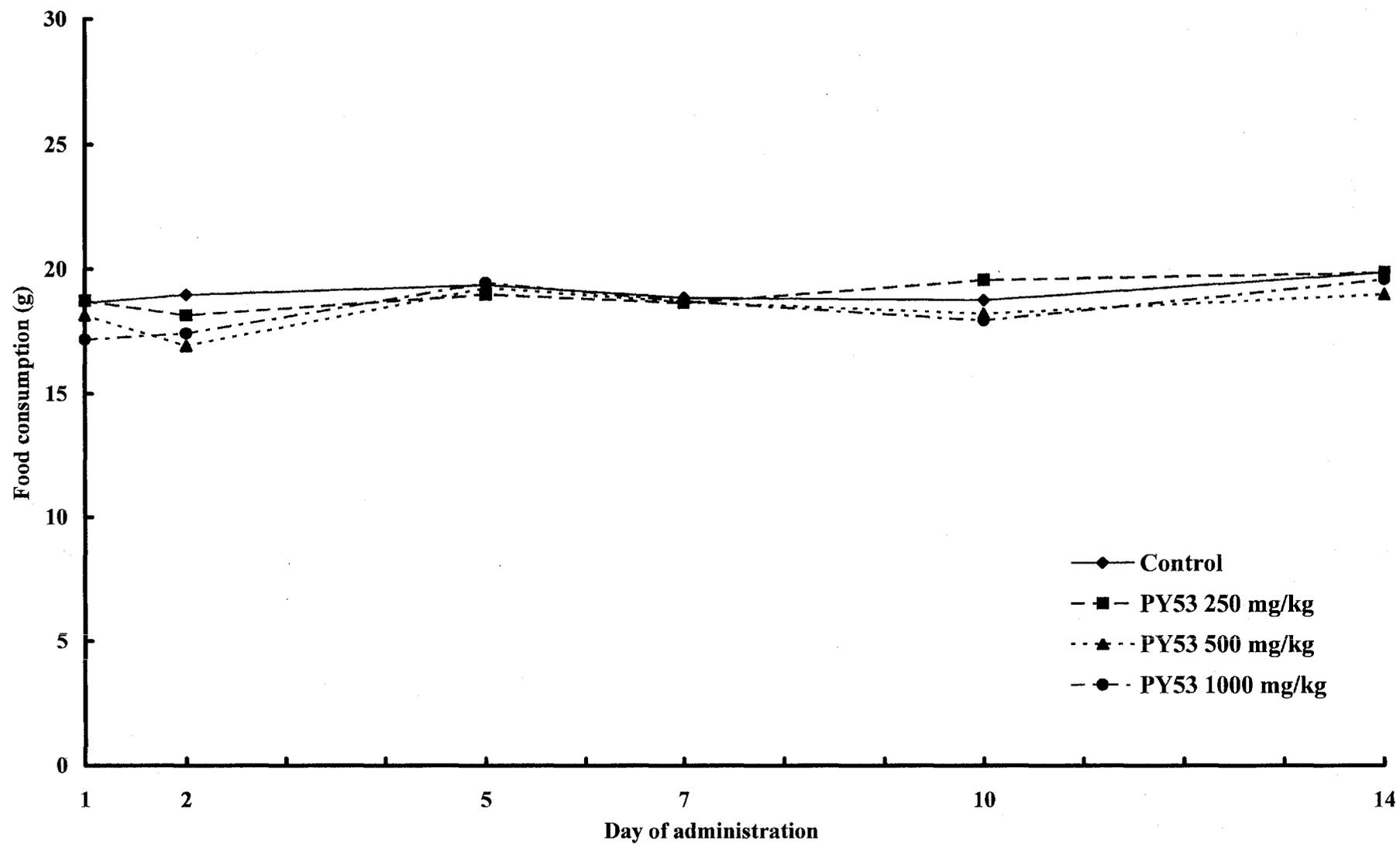


Figure 6 Food consumption before gestation period of female rats dosed orally with C.I. Pigment Yellow 53 (PY53) in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test (SR-9984)

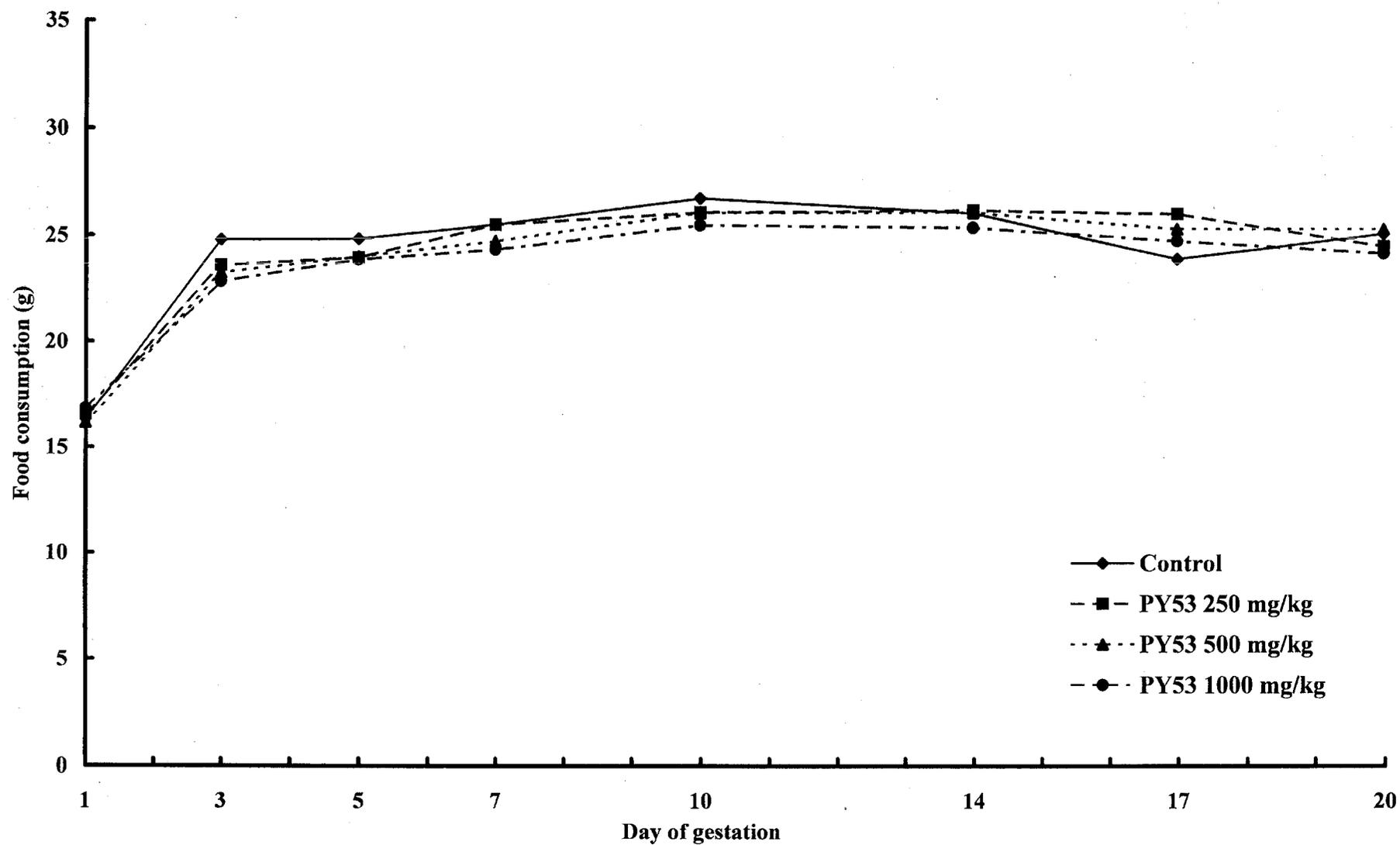


Figure 7 Food consumption during gestation period of female rats dosed orally with C.I. Pigment Yellow 53 (PY53) in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test (SR-9984)

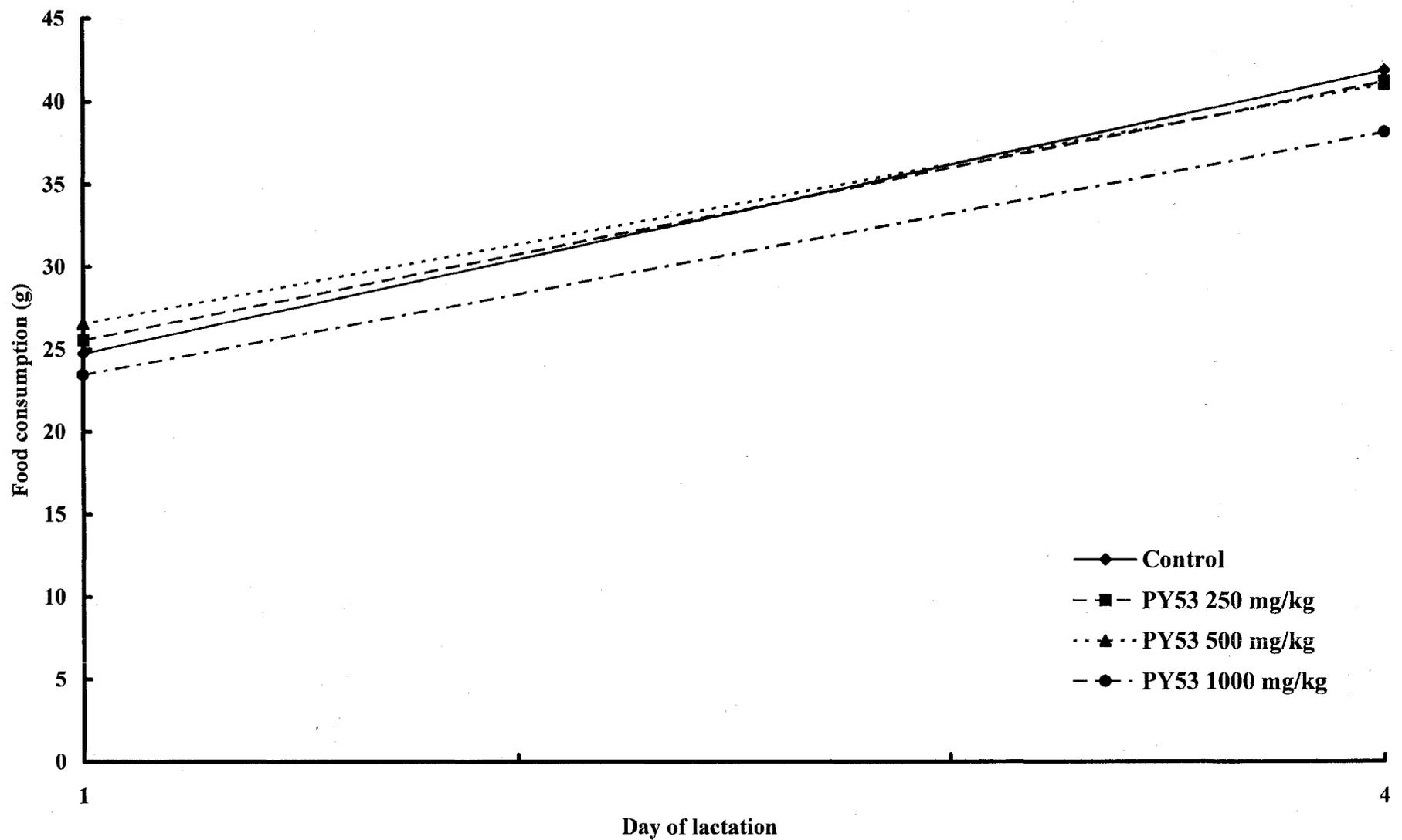


Figure 8 Food consumption during lactation period of female rats dosed orally with C.I. Pigment Yellow 53 (PY53) in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test (SR-9984)

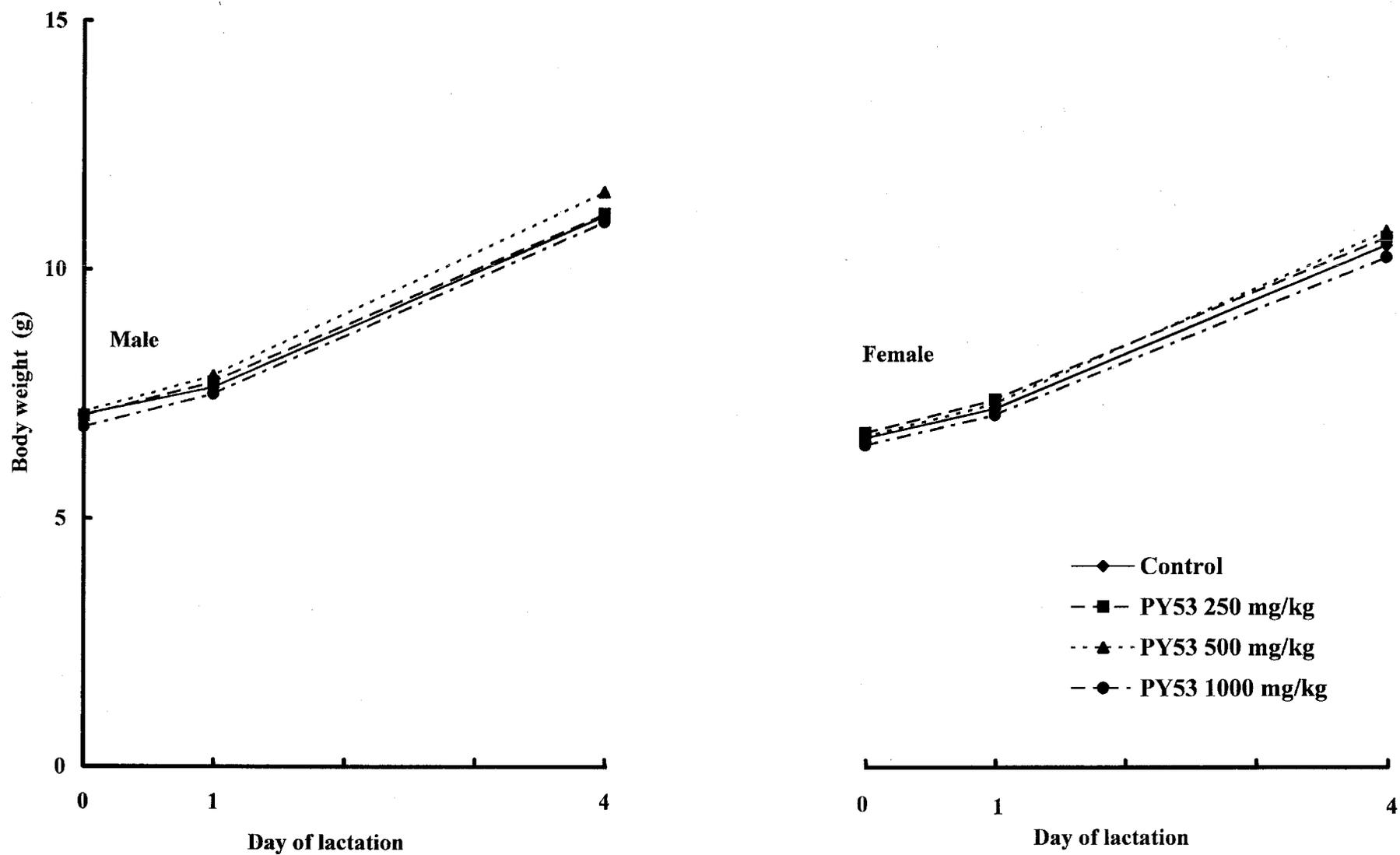


Figure 9 Body weight changes of pups in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of C.I. Pigment Yellow 53 (PY53) in rats (SR-9984)

Tables

- Table 1 Experimental design for the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of C.I. Pigment Yellow 53 (PY53) in rats (SR-9984)
- Table 2 General appearance of male rats dosed orally with C.I. Pigment Yellow 53 (PY53) in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test (SR-9984)
- Table 3 Body weight changes of male rats dosed orally with C.I. Pigment Yellow 53 (PY53) in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test (SR-9984)
- Table 4 Food consumption of male rats dosed orally with C.I. Pigment Yellow 53 (PY53) in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test (SR-9984)
- Table 5 Urinary findings of male rats dosed orally with C.I. Pigment Yellow 53 (PY53) in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test (SR-9984)
- Table 6 Hematological findings of male rats dosed orally with C.I. Pigment Yellow 53 (PY53) in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test (SR-9984)
- Table 7 Biochemical findings of male rats dosed orally with C.I. Pigment Yellow 53 (PY53) in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test (SR-9984)
- Table 8 Gross findings of male rats dosed orally with C.I. Pigment Yellow 53 (PY53) in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test (SR-9984)
- Table 9 Absolute and relative organ weights of male rats dosed orally with C.I. Pigment Yellow 53 (PY53) in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test (SR-9984)
- Table 10 Histopathological findings of male rats dosed orally with C.I. Pigment Yellow 53 (PY53) in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test (SR-9984)
- Table 11 General appearance of female rats dosed orally with C.I. Pigment Yellow 53 (PY53) in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test (SR-9984)

- Table 12 Body weight changes before gestation period of female rats dosed orally with C.I. Pigment Yellow 53 (PY53) in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test (SR-9984)
- Table 13 Body weight changes during gestation period of female rats dosed orally with C.I. Pigment Yellow 53 (PY53) in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test (SR-9984)
- Table 14 Body weight changes during lactation period of female rats dosed orally with C.I. Pigment Yellow 53 (PY53) in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test (SR-9984)
- Table 15 Food consumption before gestation period of female rats dosed orally with C.I. Pigment Yellow 53 (PY53) in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test (SR-9984)
- Table 16 Food consumption during gestation period of female rats dosed orally with C.I. Pigment Yellow 53 (PY53) in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test (SR-9984)
- Table 17 Food consumption during lactation period of female rats dosed orally with C.I. Pigment Yellow 53 (PY53) in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test (SR-9984)
- Table 18 Hematological findings of female rats dosed orally with C.I. Pigment Yellow 53 (PY53) in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test (SR-9984)
- Table 19 Biochemical findings of female rats dosed orally with C.I. Pigment Yellow 53 (PY53) in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test (SR-9984)
- Table 20 Gross findings of female rats dosed orally with C.I. Pigment Yellow 53 (PY53) in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test (SR-9984)
- Table 21 Absolute and relative organ weights of female rats dosed orally with C.I. Pigment Yellow 53 (PY53) in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test (SR-9984)
- Table 22 Histopathological findings of female rats dosed orally with C.I. Pigment Yellow 53 (PY53) in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test (SR-9984)

Table 23 Reproductive performance in parental rats dosed orally with C.I. Pigment Yellow 53 (PY53) in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test (SR-9984)

Table 24 Pregnancy and litter data of rats dosed orally with C.I. Pigment Yellow 53 (PY53) in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test (SR-9984)

Table 25 General appearance of pups in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of C.I. Pigment Yellow 53 (PY53) in rats (SR-9984)

Table 26 Body weight changes of pups in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of C.I. Pigment Yellow 53 (PY53) in rats (SR-9984)

Table 27 Gross findings of pups in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of C.I. Pigment Yellow 53 (PY53) in rats (SR-9984)

Table 1 Experimental design for the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of C.I. Pigment Yellow 53 (PY53) in rats (SR-9984)

Group	Concentration of PY53 mg/mL	Volume mL/kg	Number of animals ^a (Animal number)	
			Male	Female
Control ^b	0	10	12 (101~112)	12 (151~162)
PY53 ^c 250 mg/kg	25	10	12 (201~212)	12 (251~262)
PY53 500 mg/kg	50	10	12 (301~312)	12 (351~362)
PY53 1000 mg/kg	100	10	12 (401~412)	12 (451~462)

a: Crj:CD(SD) rats were dosed orally from day 14 before mating to day 46 of administration for males, and from day 14 before mating to day 4 of lactation for females.

b: Rats in the control were dosed with 1% carboxymethylcellulose sodium solution.

c: PY53 was suspended in 1% carboxymethylcellulose sodium solution.

Table 2 General appearance of male rats dosed orally with C.I. Pigment Yellow 53 (PY53) in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test (SR-9984)

Item	Control	PY53 (mg/kg)		
		250	500	1000
Number of animals examined	12	12	12	12
No abnormal findings	12	11	0	0
Yellowish brown feces	0	0	12	0
Yellow or yellowish brown feces	0	0	0	12
Crushing of the upper incisors	0	1	0	0

Values are number of animals with findings.

Table 3 Body weight changes of male rats dosed orally with C.I. Pigment Yellow 53 (PY53) in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test (SR-9984)

Group	Number of animals		Body weight (g) on day of administration										Body weight gain		
			1	2	5	7	10	14	21	28	35	42	46	Day 1-46	
														g	%
Control	12	Mean	371.0	374.8	390.7	400.2	412.7	427.4	454.4	479.8	499.2	515.8	520.7	149.7	40.319
		S.D.	17.8	20.9	21.9	22.9	25.7	27.5	31.5	33.6	36.9	37.9	39.2	29.9	7.736
PY53 250 mg/kg	12	Mean	371.3	374.6	388.3	398.1	411.2	427.4	450.4	476.0	495.3	516.5	522.9	150.4	40.383
		S.D.	15.2	15.0	15.6	17.3	19.7	21.8	21.9	21.8	25.2	25.6	25.8	17.3	4.473
PY53 500 mg/kg	12	Mean	370.8	371.8	386.7	396.4	409.1	424.8	449.1	474.6	493.8	512.1	517.7	146.9	39.394
		S.D.	14.7	16.0	17.4	19.7	22.8	26.1	30.1	36.8	39.9	45.7	47.9	34.8	8.138
PY53 1000 mg/kg	12	Mean	371.2	374.2	389.7	396.7	410.0	424.4	448.8	475.6	496.9	516.3	520.3	149.2	40.146
		S.D.	15.5	16.9	21.1	21.6	23.5	26.5	24.6	26.5	30.5	31.9	32.8	22.7	5.654

Body weight gain (%) = (Body weight gain / body weight on day 1) x 100.

Values in parentheses are number of animals examined.

Table 4 Food consumption of male rats dosed orally with C.I. Pigment Yellow 53 (PY53) in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test (SR-9984)

Group	Number of animals		Food consumption (g/day) on day of administration									
			1	2	5	7	10	14	28	35	42	46
Control	12	Mean	27.08	25.17	26.89	27.04	26.15	26.66	27.33	27.49	28.17	29.09
		S.D.	2.57	3.69	2.29	2.40	2.59	2.32	2.22	2.15	2.29	2.67
PY53 250 mg/kg	12	Mean	28.00	25.50	27.30	27.21	26.75	27.14	27.12	27.77	27.85	28.89
		S.D.	2.70	2.02	1.40	1.97	1.57	1.76	1.04	1.73	1.16	2.19
PY53 500 mg/kg	12	Mean	27.83	23.42	26.73	26.75	26.16	26.70	26.13	27.84	28.23	29.30
		S.D.	2.37	2.54	1.68	2.14	2.04	1.97	1.93	2.61	2.56	3.22
PY53 1000 mg/kg	12	Mean	27.17	25.33	27.19	26.79	26.65	26.81	26.98	27.93	28.71	28.80
		S.D.	3.13	3.20	2.18	2.02	1.36	1.74	1.79	1.43	1.56	1.81

Values in parentheses are number of animals examined.

Table 5 Urinary findings of male rats dosed orally with C.I. Pigment Yellow 53 (PY53) in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test (SR-9984)

Group	Number of animals	pH		Protein		Glucose	Ketone body		Urobilinogen 0.1 EU/dL	Bilirubin	Occult blood	Color
		8.0	8.5	±	+	-	-	±		-	-	A
Control	6	5	1	6	0	6	6	0	6	6	6	6
PY53 250 mg/kg	6	3	3	5	1	6	5	1	6	6	6	6
PY53 500 mg/kg	6	4	2	5	1	6	6	0	6	6	6	6
PY53 1000 mg/kg	6	2	4	6	0	6	6	0	6	6	6	6

Group	Number of animals	Urinary sediments							Specific gravity			Urine volume (mL/21hr., mean±S.D.)	Water consumption (g, mean±S.D.)	
		RBC	WBC	Epithelial cell		Small round	Cast	1.031-1.041-	1.041-1.050	1.050<				
				-	±			-	1.040	1.050				
Control	6	6	6	4	2	6	6	6	5	1	0	18.67±4.18	18.5±11.5	
PY53 250 mg/kg	6	6	6	1	5	6	6	6	[0	6	0]*	14.58±1.24	19.7±3.3
PY53 500 mg/kg	6	6	6	1	5	6	6	6	4	1	1	17.25±4.39	11.2±8.5	
PY53 1000 mg/kg	6	6	6	1	5	6	6	6	2	4	0	17.42±2.50	20.7±3.9	

Color: A = Pale yellow or yellow.

Values are number of animals with findings.

*: Significantly different from the control at $p \leq 0.05$.

Table 6 Hematological findings of male rats dosed orally with C.I. Pigment Yellow 53 (PY53) in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test (SR-9984)

Group	Number of animals		RBC	Ht	Hb	MCV	MCH	MCHC	WBC	Platelet
			10 ⁶ /μL	%	g/dL	fL	pg	g/dL	10 ³ /μL	10 ⁴ /μL
Control	12	Mean	914.2	47.32	16.29	51.80	17.84	34.43	105.9	112.03
		S.D.	41.1	1.62	0.51	1.56	0.70	0.61	23.6	9.84
PY53 250 mg/kg	12	Mean	901.5	46.92	15.99	52.05	17.74	34.10	109.3	109.64
		S.D.	33.6	2.09	0.68	1.24	0.51	1.00	22.8	17.10
PY53 500 mg/kg	12	Mean	887.8	46.12	15.73	51.96	17.72	34.11	109.0	110.05
		S.D.	29.9	1.65	0.51	1.17	0.28	0.48	17.6	8.24
PY53 1000 mg/kg	12	Mean	897.9	46.38	15.84	51.69	17.66	34.18	110.2	107.42
		S.D.	41.4	2.16	0.69	2.27	0.81	0.75	21.5	7.98

Group	Number of animals		Reticu- loocyte %	PT sec	APTT sec	Differential count of WBC %						
						Neutrophil		Eosino- phil	Basophil	Monocyte	Lympho- cyte	Others
						Stab form	Seg- mented					
Control	12	Mean	21.1	17.32	27.60	1.2	10.7	0.6	0.2	1.7	85.8	0.0
		S.D.	6.4	1.57	1.35	0.8	4.3	0.8	0.4	1.0	5.3	0.0
PY53 250 mg/kg	12	Mean	26.1	16.33	25.49**	1.0	8.6	0.7	0.0	0.9	88.8	0.0
		S.D.	7.9	1.39	1.47	0.9	3.4	1.2	0.0	0.9	4.4	0.0
PY53 500 mg/kg	12	Mean	23.0	16.06	26.33	1.1	9.1	0.9	0.3	0.8	87.8	0.0
		S.D.	9.4	1.66	2.87	0.9	4.5	0.7	0.5	1.1	4.8	0.0
PY53 1000 mg/kg	12	Mean	20.6	15.88	24.66**	1.5	11.0	1.0	0.0	1.3	85.2	0.0
		S.D.	4.0	1.71	2.07	1.1	5.6	1.0	0.0	1.3	6.5	0.0

** : Significantly different from the control at $p \leq 0.01$.

Table 7 Biochemical findings of male rats dosed orally with C.I. Pigment Yellow 53 (PY53) in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test (SR-9984)

Group	Number of animals		TP g/dL	A/G ratio	Protein fraction (%)					GOT IU/L	GPT IU/L	ALP IU/L	ChE IU/L	γ-GTP IU/L	T-Bil mg/dL	Glucose mg/dL
					Albumin	Globulin										
						α ₁	α ₂	β	γ							
Control	12	Mean	5.71	1.010	50.23	25.14	9.23	12.75	2.65	65.1	29.0	234.8	55.0	0.22	0.056	152.4
		S.D.	0.17	0.117	3.09	1.93	1.06	1.25	0.62	13.9	8.8	53.3	14.1	0.19	0.008	10.5
PY53 250 mg/kg	12	Mean	5.63	1.013	50.38	24.68	9.38	12.53	3.03	65.0	29.5	221.8	60.1	0.13	0.057	158.8
		S.D.	0.15	0.077	1.95	1.97	1.05	0.88	1.16	10.7	10.9	56.7	18.1	0.19	0.011	21.2
PY53 500 mg/kg	12	Mean	5.53	1.039	51.05	23.65	9.18	13.11	3.01	68.7	29.3	202.9	52.9	0.14	0.053	149.1
		S.D.	0.25	0.074	1.82	1.16	1.32	0.84	1.06	14.6	7.2	31.5	17.6	0.13	0.008	10.6
PY53 1000 mg/kg	12	Mean	5.58	1.067	51.59	23.26	9.55	12.68	2.93	68.8	29.3	222.8	59.0	0.20	0.053	152.9
		S.D.	0.24	0.113	2.66	3.25	0.72	0.47	0.56	10.2	4.1	30.5	16.4	0.14	0.009	13.4

Group	Number of animals		T-Cho mg/dL	TG mg/dL	PL mg/dL	UN mg/dL	Crea mg/dL	Na mEq/L	K mEq/L	Cl mEq/L	Ca mg/dL	IP mg/dL
Control	12	Mean	62.9	34.9	96.6	17.28	0.447	143.67	4.958	106.5	9.49	6.93
		S.D.	18.3	23.9	22.7	1.38	0.035	1.66	0.462	2.0	0.54	1.09
PY53 250 mg/kg	12	Mean	58.3	41.8	92.8	17.65	0.461	143.63	4.648	106.4	9.32	6.70
		S.D.	6.4	22.2	15.4	1.82	0.055	1.07	0.271	1.2	0.19	0.73
PY53 500 mg/kg	12	Mean	55.8	34.3	89.2	17.59	0.463	142.79	4.683	106.3	9.23	6.68
		S.D.	11.9	25.3	17.7	2.39	0.049	1.21	0.300	1.2	0.35	0.82
PY53 1000 mg/kg	12	Mean	61.7	33.6	96.5	17.36	0.462	143.21	4.626*	106.5	9.24	6.68
		S.D.	10.6	5.1	12.5	1.67	0.032	1.05	0.233	1.4	0.28	0.82

*: Significantly different from the control at $p \leq 0.05$.

Table 8 Gross findings of male rats dosed orally with C.I. Pigment Yellow 53 (PY53) in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test (SR-9984)

Item	Control	PY53 (mg/kg)		
		250	500	1000
Number of animals examined	12	12 ^a	12 ^a	12 ^b
Organ : Findings				
Cecum : Yellowish green discoloration, contents	0	0	1	12 ^b

Values are number of animals with findings.

a: Includes one animal that failed in copulation.

b: Includes one animal whose mate had no evidence of pregnancy.

Table 9 Absolute and relative organ weights of male rats dosed orally with C.I. Pigment Yellow 53 (PY53) in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test (SR-9984)

Group	Number of animals	Body weight g	Brain		Heart		Liver		Kidney						Spleen		
			g	%	g	%	g	%	Right		Left		Total		g	%	
Control	12	Mean	490.8	2.233	0.457	1.419	0.291	12.661	2.573	1.628	0.333	1.653	0.338	3.280	0.671	0.738	0.151
		S.D.	37.9	0.097	0.032	0.096	0.019	1.839	0.224	0.129	0.027	0.153	0.026	0.273	0.051	0.102	0.018
PY53 250 mg/kg	12	Mean	485.1	2.158	0.447	1.378	0.283	12.507	2.573	1.582	0.325	1.593	0.328	3.174	0.655	0.761	0.156
		S.D.	32.9	0.074	0.037	0.151	0.018	1.458	0.189	0.166	0.026	0.174	0.029	0.338	0.055	0.106	0.023
PY53 500 mg/kg	12	Mean	489.0	2.224	0.458	1.347	0.277	12.405	2.528	1.597	0.326	1.609	0.330	3.206	0.655	0.753	0.155
		S.D.	47.8	0.072	0.045	0.094	0.019	1.732	0.148	0.181	0.022	0.185	0.027	0.361	0.049	0.059	0.018
PY53 1000 mg/kg	12	Mean	489.0	2.195	0.449	1.378	0.283	12.564	2.568	1.525	0.313	1.553	0.318	3.078	0.631	0.733	0.149
		S.D.	32.9	0.099	0.021	0.091	0.021	0.959	0.067	0.161	0.033	0.143	0.031	0.298	0.059	0.082	0.015

Group	Number of animals		Adrenal						Thymus								Testis					
			Right		Left		Total		Thymus		Right		Left		Total		g	%	g	%	g	%
Control	12	Mean	29.9	6.099	33.1	6.777	63.0	12.877	315.8	64.640	1.672	0.343	1.660	0.340	3.332	0.682						
		S.D.	5.5	1.075	7.0	1.546	11.9	2.501	69.0	14.592	0.107	0.031	0.130	0.029	0.233	0.061						
PY53 250 mg/kg	12	Mean	30.2	6.228	32.1	6.615	62.3	12.843	300.3	62.108	1.660	0.343	1.650	0.341	3.310	0.684						
		S.D.	3.5	0.703	5.1	0.954	7.5	1.398	56.2	12.256	0.094	0.016	0.130	0.028	0.215	0.041						
PY53 500 mg/kg	12	Mean	29.2	6.007	31.2	6.408	60.3	12.415	323.8	66.143	1.699	0.349	1.707	0.353	3.406	0.703						
		S.D.	4.1	0.904	4.3	0.952	7.5	1.700	72.7	13.632	0.143	0.049	0.161	0.050	0.300	0.099						
PY53 1000 mg/kg	12	Mean	29.9	6.141	32.8	6.758	62.8	12.900	293.8	60.277	1.645	0.338	1.640	0.334	3.285	0.673						
		S.D.	4.4	0.985	4.2	1.131	8.0	2.029	76.3	15.891	0.133	0.031	0.153	0.029	0.283	0.057						

(to be continued)

Table 9 Absolute and relative organ weights of male rats dosed orally with C.I. Pigment Yellow 53 (PY53) in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test (SR-9984) (continued)

Group	Number of animals		Epididymis					
			Right		Left		Total	
			g	%	g	%	g	%
Control	12	Mean	0.646	0.133	0.626	0.128	1.272	0.259
		S.D.	0.049	0.014	0.038	0.012	0.082	0.024
PY53 250 mg/kg	12	Mean	0.643	0.132	0.615	0.128	1.258	0.260
		S.D.	0.057	0.010	0.069	0.011	0.124	0.020
PY53 500 mg/kg	12	Mean	0.634	0.133	0.622	0.128	1.256	0.259
		S.D.	0.053	0.018	0.063	0.019	0.113	0.038
PY53 1000 mg/kg	12	Mean	0.630	0.130	0.621	0.128	1.251	0.257
		S.D.	0.050	0.013	0.058	0.011	0.106	0.024

Table 10 Histopathological findings of male rats dosed orally with C.I. Pigment Yellow 53 (PY53) in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test (SR-9984)

Item		Control	PY53 1000 mg/kg
Number of animals examined		12	12 ^a
Organ : Findings	Grade		
Heart : Myocardial degeneration	+	1	3
Kidney : Cast, hyaline	+	1	0
Eosinophilic body, proximal tubular epithelium	+	1	1
Testis : Atrophy, seminiferous tubule	+	1	3 ^a
Epididymis : Cell debris, lumen	+	0	1
Granuloma, spermatic	+	1	0
Prostate : Cellular infiltration, lymphocyte	+	6	4

There were no abnormal findings in the lung, trachea, larynx, tongue, parotid gland, submandibular gland, sublingual gland, esophagus, forestomach, glandular stomach, duodenum, jejunum, ileum, cecum, colon, rectum, pancreas, liver, thoracic aorta, urinary bladder, seminal vesicle, coagulating gland, cerebrum, cerebellum, spinal cord, sciatic nerve, spleen, thymus, bone marrow (sternum and femur), submandibular lymph node, mesenteric lymph node, pituitary gland, thyroid, parathyroid, adrenal, eyeball, Harderian gland, skeletal muscle, sternum, femur or skin.

Grade: +; slight change.

Values are number of animals with findings.

a: Includes one animal whose mate had no evidence of pregnancy.

Table 11 General appearance of female rats dosed orally with C.I. Pigment Yellow 53 (PY53) in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test (SR-9984)

Item	Control	PY53 (mg/kg)		
		250	500	1000
Findings before gestation period				
Number of animals examined	12	12 ^a	12 ^a	12
No abnormal findings	12	11	0	0
Yellowish brown feces	0	0	12	0
Yellow or yellowish brown feces	0	0	0	12
Trauma in the lower eyelid	0	0	1	0
Scab-formation in the lower eyelid	0	0	1	0
Scab-formation in the back	0	1	0	0
Findings during gestation period				
Number of animals examined	12	11	11	12 ^b
No abnormal findings	11	11	0	0
Yellowish brown feces	0	0	11	0
Yellow or yellowish brown feces	0	0	0	12
Alopecia in the forelimbs	1	0	0	0
Alopecia in the thoracic region	1	0	0	0
Findings during lactation period				
Number of animals examined	12	11	11	11
No abnormal findings	11	11	0	0
Yellowish brown feces	0	0	11	0
Yellow or yellowish brown feces	0	0	0	11
Alopecia in the forelimbs	1	0	0	0
Alopecia in the thoracic region	1	0	0	0
Alopecia in the inguinal region	1	0	0	0

Values are number of animals with findings.

a: Includes one animal that failed in copulation.

b: Includes one animal that had no evidence of pregnancy.

Table 12 Body weight changes before gestation period of female rats dosed orally with C.I. Pigment Yellow 53 (PY53) in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test (SR-9984)

Group	Number of animals		Body weight (g) on day of administration						Body weight gain	
			1	2	5	7	10	14	Day 1-14	
									g	%
Control	12	Mean	231.3	233.2	238.8	242.0	249.0	256.8	25.4	11.011
		S.D.	16.9	16.0	17.3	16.1	19.0	21.0	10.7	4.642
PY53 250 mg/kg	12	Mean	233.1	233.3	241.5	243.0	251.5	257.8	24.8	10.554
		S.D.	13.7	13.1	15.7	15.0	18.1	19.4	8.6	3.475
PY53 500 mg/kg	12	Mean	232.2	233.0	240.9	244.9	249.4	255.8	23.6	10.148
		S.D.	14.6	13.4	17.4	16.2	16.4	18.6	8.8	3.750
PY53 1000 mg/kg	12	Mean	231.4	232.7	241.3	246.3	250.3	258.3	26.8	11.473
		S.D.	13.1	14.8	15.4	17.4	19.5	22.0	11.1	4.373

Body weight gain (%) = (Body weight gain / body weight on day 1) x 100.

Table 13 Body weight changes during gestation period of female rats dosed orally with C.I. Pigment Yellow 53 (PY53) in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test (SR-9984)

Group	Number of animals		Body weight (g) on day of gestation									Body weight gain	
			0	1	3	5	7	10	14	17	20	g	%
Control	12	Mean	265.8	273.5	288.4	298.2	306.3	323.8	344.3	371.8	422.3	156.5	58.966
		S.D.	20.1	19.6	23.1	21.9	23.9	24.9	27.0	29.9	33.2	19.6	6.489
PY53 250 mg/kg	11	Mean	259.4	267.9	282.2	291.5	301.8	318.7	338.6	366.9	412.4	153.0	59.246
		S.D.	21.4	21.9	21.5	23.3	24.0	24.5	25.0	26.1	28.7	13.9	6.277
PY53 500 mg/kg	11	Mean	264.0	271.9	285.5	294.8	303.7	323.5	346.2	374.3	422.6	158.6	60.107
		S.D.	20.5	20.8	21.2	23.4	24.8	27.1	31.9	33.6	36.1	20.0	5.842
PY53 1000 mg/kg	11	Mean	266.7	273.5	285.3	295.1	303.0	319.0	340.9	366.8	415.0	148.3	56.165
		S.D.	23.5	25.0	25.2	23.4	27.1	27.3	25.0	22.8	20.2	12.4	8.124

Body weight gain (%) = (Body weight gain / body weight on day 0) x 100.

Table 14 Body weight changes during lactation period of female rats dosed orally with C.I. Pigment Yellow 53 (PY53) in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test (SR-9984)

Group	Number of animals		Body weight (g) on day of lactation			Body weight gain Day 0-4	
			0	1	4	g	%
Control	12	Mean	305.7	314.4	334.2	28.5	9.568
		S.D.	33.8	38.0	31.8	12.2	4.695
PY53 250 mg/kg	11	Mean	312.2	317.6	339.1	26.9	8.974
		S.D.	32.5	32.9	25.8	13.6	4.948
PY53 500 mg/kg	11	Mean	318.1	327.0	345.6	27.5	8.741
		S.D.	25.4	25.9	25.9	8.4	2.899
PY53 1000 mg/kg	11	Mean	315.6	320.3	339.1	23.5	7.826
		S.D.	34.3	32.0	26.7	13.3	5.147

Body weight gain (%) = (Body weight gain / body weight on day 0) x 100.

Table 15 Food consumption before gestation period of female rats dosed orally with C.I. Pigment Yellow 53 (PY53) in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test (SR-9984)

Group	Number of animals	Food consumption (g/day) on day of administration						
			1	2	5	7	10	14
Control	12	Mean	18.67	19.00	19.39	18.88	18.78	19.88
		S.D.	3.28	2.76	1.48	2.00	1.75	1.67
PY53 250 mg/kg	12	Mean	18.75	18.17	19.02	18.67	19.58	19.87
		S.D.	3.17	1.99	2.49	2.10	2.84	2.60
PY53 500 mg/kg	12	Mean	18.17	16.92	19.28	18.71	18.24	19.03
		S.D.	3.43	3.15	2.61	2.38	2.19	2.46
PY53 1000 mg/kg	12	Mean	17.17	17.42	19.47	18.75	17.96	19.61
		S.D.	3.43	2.97	1.44	2.31	1.89	2.40

Table 16 Food consumption during gestation period of female rats dosed orally with C.I. Pigment Yellow 53 (PY53) in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test (SR-9984)

Group	Number of animals	Food consumption (g/day) on day of gestation								
		1	3	5	7	10	14	17	20	
Control	12	Mean	16.33	24.79	24.83	25.50	26.73	26.03	23.88	25.04
		S.D.	2.67	2.82	1.70	2.97	2.17	2.48	5.07	2.77
PY53 250 mg/kg	11	Mean	16.55	23.59	23.95	25.50	26.08	26.16	26.00	24.45
		S.D.	2.81	2.59	3.34	2.32	3.18	3.61	3.53	2.72
PY53 500 mg/kg	11	Mean	16.18	23.23	24.00	24.73	26.06	26.06	25.29	25.27
		S.D.	2.89	3.09	2.85	3.27	3.70	3.81	2.67	2.18
PY53 1000 mg/kg	11	Mean	16.82	22.82	23.86	24.32	25.48	25.35	24.72	24.12
		S.D.	3.12	2.16	2.18	2.50	2.49	1.64	1.51	1.72

Table 17 Food consumption during lactation period of female rats dosed orally with C.I. Pigment Yellow 53 (PY53) in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test (SR-9984)

Group	Number of animals	Food consumption (g/day) on day of lactation		
		1	4	
Control	12	Mean	24.75	41.86
		S.D.	7.76	6.92
PY53 250 mg/kg	11	Mean	25.55	41.17
		S.D.	6.01	3.51
PY53 500 mg/kg	11	Mean	26.55	41.03
		S.D.	4.87	5.11
PY53 1000 mg/kg	11	Mean	23.45	38.12
		S.D.	4.13	5.13

Table 18 Hematological findings of female rats dosed orally with C.I. Pigment Yellow 53 (PY53) in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test (SR-9984)

Group	Number of animals		RBC	Ht	Hb	MCV	MCH	MCHC	WBC	Platelet	Differential count of WBC %														
			10 ⁶ /μL	%	g/dL	fL	pg	g/dL	10 ³ /μL	10 ⁴ /μL	Reticu- locyte %	PT sec	APTT sec	Neutrophil		Eosino- phil	Basophil	Monocyte	Lympho- cyte	Others					
Control	6	Mean	700.3	39.97	13.80	57.03	19.70	34.52	128.2	104.93															
		S.D.	26.5	2.15	0.77	1.37	0.47	0.41	17.2	7.51															
PY53 250 mg/kg	6	Mean	682.5	39.88	14.02	58.42	20.53**	35.18	124.2	123.67*															
		S.D.	20.6	2.15	0.56	1.98	0.48	0.80	19.4	13.98															
PY53 500 mg/kg	6	Mean	692.7	40.35	13.85	58.23	20.02	34.32	119.3	104.55															
		S.D.	31.0	2.14	0.58	0.98	0.28	0.58	20.4	14.86															
PY53 1000 mg/kg	6	Mean	716.5	40.60	13.93	56.73	19.45	34.33	135.3	111.07															
		S.D.	38.3	1.36	0.50	1.30	0.45	0.29	22.4	11.38															

*: Significantly different from the control at p ≤ 0.05.

**: Significantly different from the control at p ≤ 0.01.

Table 19 Biochemical findings of female rats dosed orally with C.I. Pigment Yellow 53 (PY53) in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test (SR-9984)

Group	Number of animals		TP g/dL	A/G ratio	Protein fraction (%)					GOT IU/L	GPT IU/L	ALP IU/L	ChE IU/L	γ -GTP IU/L	T-Bil mg/dL	Glucose mg/dL
					Albumin	Globulin										
						α_1	α_2	β	γ							
Control	6	Mean	5.57	1.077	51.88	22.47	9.35	13.85	2.45	86.8	50.7	162.5	352.7	0.65	0.070	120.2
		S.D.	0.23	0.066	1.59	0.92	0.63	0.86	0.68	10.5	10.1	78.4	38.2	0.19	0.011	12.1
PY53 250 mg/kg	6	Mean	5.68	1.105	52.52	23.33	8.47	13.23	2.45	71.7	45.0	145.3	257.2*	0.65	0.067	138.7
		S.D.	0.33	0.076	1.76	1.15	1.44	0.66	0.80	11.3	5.6	66.5	44.5	0.08	0.027	13.7
PY53 500 mg/kg	6	Mean	5.53	1.077	51.87	22.70	9.03	14.05	2.35	76.7	43.8	163.0	299.0	0.70	0.068	130.5
		S.D.	0.31	0.100	2.30	1.30	0.94	0.94	0.40	13.4	10.5	54.2	53.0	0.23	0.010	10.9
PY53 1000 mg/kg	6	Mean	5.70	1.140	53.30	22.30	8.38	13.63	2.38	72.3	36.0*	118.8	290.8	0.48	0.065	133.3
		S.D.	0.27	0.087	1.89	1.50	0.44	1.08	0.60	5.9	5.3	29.1	67.6	0.19	0.014	13.2

Group	Number of animals		T-Cho mg/dL	TG mg/dL	PL mg/dL	UN mg/dL	Crea mg/dL	Na mEq/L	K mEq/L	Cl mEq/L	Ca mg/dL	IP mg/dL
		S.D.	7.4	23.0	14.3	2.54	0.074	1.11	0.282	2.9	0.15	0.56
PY53 250 mg/kg	6	Mean	58.7	55.3	115.7	20.85	0.503	141.25	4.912	105.7	9.37	6.93
		S.D.	9.9	25.5	21.0	4.39	0.039	0.94	0.225	1.8	0.37	0.49
PY53 500 mg/kg	6	Mean	63.7	56.2	120.2	20.50	0.535	140.00*	5.007	106.0	9.23	6.45
		S.D.	10.7	20.4	16.2	2.16	0.055	1.14	0.253	1.3	0.27	0.47
PY53 1000 mg/kg	6	Mean	57.2	63.8	115.7	20.00	0.517	141.33	4.768	106.3	9.27	6.82
		S.D.	10.9	29.7	15.3	2.60	0.050	1.17	0.140	1.5	0.19	0.84

*: Significantly different from the control at $p \leq 0.05$.

Table 20 Gross findings of female rats dosed orally with C.I. Pigment Yellow 53 (PY53) in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test (SR-9984)

Item	Control	PY53 (mg/kg)		
		250	500	1000
Number of animals examined	12	12 ^a	12 ^a	12 ^b
Organ : Findings				
Stomach : Yellow discoloration, contents	0	0	0	1 ^c
Cecum : Yellow discoloration, contents	0	0	0	1 ^c
Yellowish green discoloration, contents	0	0	4	8
Kidney : Dilatation, renal pelvis, unilateral	1	0	0	0
Uterus : Retention, yellowish white fluid	0	0	0	1 ^c
Vagina : Atresia	0	0	0	1 ^c
Retention, yellowish white fluid	0	0	0	1 ^c
Skin : Alopecia	1	0	0	0

Values are number of animals with findings.

a: Includes one animal that failed in copulation.

b: Includes one animal that had no evidence of pregnancy.

c: The animal that had no evidence of pregnancy.

Table 21 Absolute and relative organ weights of female rats dosed orally with C.I. Pigment Yellow 53 (PY53) in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test (SR-9984)

Group	Number of animals		Body weight g	Brain		Heart		Liver		Kidney				Spleen			
				g	%	g	%	g	%	Right g	Right %	Left g	Left %	Total g	Total %	g	%
Control	12	Mean	306.9	2.037	0.669	0.983	0.320	10.278	3.350	1.090	0.356	1.090	0.357	2.180	0.712	0.699	0.228
		S.D.	30.4	0.069	0.055	0.069	0.015	1.182	0.258	0.148	0.046	0.164	0.049	0.309	0.093	0.087	0.027
PY53 250 mg/kg	11	Mean	307.0	2.046	0.670	0.974	0.317	10.314	3.365	1.099	0.358	1.073	0.351	2.172	0.708	0.662	0.215
		S.D.	25.3	0.062	0.048	0.098	0.013	0.914	0.242	0.117	0.027	0.124	0.025	0.238	0.049	0.110	0.028
PY53 500 mg/kg	11	Mean	314.5	2.046	0.655	0.983	0.314	10.478	3.334	1.070	0.340	1.055	0.335	2.125	0.675	0.705	0.224
		S.D.	24.1	0.086	0.044	0.085	0.013	0.973	0.197	0.134	0.036	0.137	0.036	0.268	0.072	0.060	0.019
PY53 1000 mg/kg	11	Mean	308.3	2.032	0.663	0.951	0.307	10.211	3.325	1.046	0.340	1.035	0.337	2.081	0.677	0.705	0.228
		S.D.	28.5	0.073	0.052	0.099	0.017	0.658	0.194	0.079	0.026	0.102	0.023	0.175	0.047	0.144	0.045

Group	Number of animals		Adrenal						Thymus		Ovary					
			Right		Left		Total		mg	10 ⁻³ %	mg	10 ⁻³ %	mg	10 ⁻³ %	mg	10 ⁻³ %
Control	12	Mean	39.8	13.049	40.3	13.174	80.1	26.223	240.6	77.682	53.8	17.624	50.4	16.452	104.2	34.073
		S.D.	4.7	1.591	5.7	1.849	10.1	3.356	82.1	22.760	7.9	2.854	8.7	2.432	10.0	3.107
PY53 250 mg/kg	11	Mean	36.4	11.845	40.0	13.009	76.4	24.854	237.5	77.607	55.7	18.220	51.0	16.676	106.7	34.896
		S.D.	6.1	1.756	5.7	1.286	11.3	2.888	52.6	17.023	7.8	2.595	9.2	3.155	13.4	4.429
PY53 500 mg/kg	11	Mean	35.9	11.424*	37.1	11.786	73.0	23.209	254.6	80.983	56.5	17.935	54.6	17.345	111.2	35.280
		S.D.	5.1	1.431	6.4	1.804	11.3	3.127	76.8	23.483	8.7	2.042	8.2	1.963	14.5	2.937
PY53 1000 mg/kg	11	Mean	35.5	11.550	38.0	12.368	73.5	23.918	239.4	77.187	51.3	16.651	51.4	16.772	102.6	33.422
		S.D.	3.9	1.288	4.2	1.348	7.5	2.470	51.8	12.733	5.9	1.404	5.6	2.204	9.0	2.837

*: Significantly different from the control at $p \leq 0.05$.

Table 22 Histopathological findings of female rats dosed orally with C.I. Pigment Yellow 53 (PY53) in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test (SR-9984)

Item		Control	PY53 1000 mg/kg
Number of animals examined		12	12 ^a
Organ : Findings	Grade		
Tongue : Erosion	+	3	1
Liver : Necrosis, focal	+	1	0
Kidney : Cyst	<+>	1	0
Dilatation, renal pelvis	+	1	0
Dilatation, tubule	+	1	0
Fibrosis, focal	+	1	0
Mineralization, cortico-medullary junction	+	1	3 ^a
Uterus : Inflammation, uterine horn	+	0	1 ^b
Granuloma, uterine cervix	+	1	0
Vagina : Atresia	<+>	0	1 ^b
Thymus : Atrophy	+	1	0
Skin : Atrophy, hair follicle	+	1	0
Mammary gland : Inflammation	++	1	0

There were no abnormal findings in the lung, trachea, larynx, parotid gland, submandibular gland, sublingual gland, esophagus, forestomach, glandular stomach, duodenum, jejunum, ileum, cecum, colon, rectum, pancreas, heart, thoracic aorta, urinary bladder, ovary, cerebrum, cerebellum, spinal cord, sciatic nerve, spleen, bone marrow (sternum and femur), submandibular lymph node, mesenteric lymph node, pituitary gland, thyroid, parathyroid, adrenal, eyeball, Harderian gland, skeletal muscle, sternum or femur.

Grade: +; slight change, ++; moderate change, <+>; presence in "presence or not" basis.

Values are number of animals with findings.

a: Includes one animal that had no evidence of pregnancy.

b: The animal that had no evidence of pregnancy.

Table 23 Reproductive performance in parental rats dosed orally with C.I. Pigment Yellow 53 (PY 53) in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test (SR-9984)

Group	Estrous cycle		Copulation index		Fertility index	Gestation index	Gestation length (days) ^a	Nursing index
	Normality	Length (days) ^a	Male	Female	Incidence (%)	Incidence (%)		Incidence (%)
	Incidence (%)		Incidence (%)	Incidence (%)				
Control	12/12 (100)	4.06 0.20	12/12 (100)	12/12 (100)	12/12 (100)	12/12 (100)	22.7 0.5	12/12 (100)
PY53 250 mg/kg	11/12 (91.7)	4.06 0.21	11/12 (91.7)	11/12 (91.7)	11/11 (100)	11/11 (100)	22.5 0.5	11/11 (100)
PY53 500 mg/kg	11/12 (91.7)	4.06 0.21	11/12 (91.7)	11/12 (91.7)	11/11 (100)	11/11 (100)	22.5 0.5	11/11 (100)
PY53 1000 mg/kg	12/12 (100)	4.08 0.14	12/12 (100)	12/12 (100)	11/12 (91.7)	11/11 (100)	22.5 0.5	11/11 (100)

Normal estrous cycle = (Number of females with normal estrous cycle / number of females examined) x 100.

Copulation index = (Number of animals with successful copulation / number of animals mated) x 100.

Fertility index = (Number of pregnant females / number of females with successful copulation) x 100.

Gestation index = (Number of females with live pups delivery / number of pregnant females) x 100.

Nursing index = (Number of females nursing live pups on lactation day 4 / number of females with live pups delivery) x 100.

a: Values are means and S.D.

Table 25 General appearance of pups in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of C.I. Pigment Yellow 53 (PY 53) in rats (SR-9984)

Item	Male				Female			
	Control	PY 53 (mg/kg)			Control	PY 53 (mg/kg)		
		250	500	1000		250	500	1000
Number of pups examined	90	85	84	76	88	72	75	79
Findings of dead or missing pups								
Number of pups found dead on lactation day 0	0	0	2	2	1	0	3	0
Death	-	-	2	2	1	-	3	-
Number of pups found dead or missing during lactation days 1-4	2	0	0	3	1	0	0	1
Death	1	-	-	3	1	-	-	1
Missing	1	-	-	0	0	-	-	0
Scab-formation in the left forelimb	0	-	-	1	0	-	-	0
Findings of surviving pups								
Number of pups alive through lactation days 0-4	88	85	82	71	86	72	72	78
No abnormal findings	88	85	82	71	86	72	71	78
Trauma in the abdominal region	0	0	0	0	0	0	1	0

Values are number of animals with findings.

-: Blank.

Table 26 Body weight changes of pups in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of C.I. Pigment Yellow 53 (PY53) in rats (SR-9984)

Group	Number of Litters		Male					Female				
			Body weight (g) on day of lactation			Body weight gain Day 0-4		Body weight (g) on day of lactation			Body weight gain Day 0-4	
			0	1	4	g	%	0	1	4	g	%
Control	12	Mean	7.08	7.62	11.08	4.01	56.476	6.62	7.21	10.49	3.88	58.332
		S.D.	0.77	0.95	1.43	0.75	6.835	0.74	0.92	1.41	0.74	7.099
PY53 250 mg/kg	11	Mean	7.05	7.73	11.12	4.07	58.275	6.72	7.39	10.65	3.93	58.757
		S.D.	0.76	0.81	0.92	0.32	6.370	0.72	0.82	0.99	0.38	5.604
PY53 500 mg/kg	11	Mean	7.13	7.86	11.57	4.45	61.979	6.65	7.31	10.78	4.14	61.859
		S.D.	0.73	0.91	1.59	0.95	8.716	0.75	0.94	1.54	0.86	7.677
PY53 1000 mg/kg	11	Mean	6.83	7.49	10.96	4.14	60.811	6.47	7.08	10.25	3.78	58.455
		S.D.	0.77	0.86	1.42	0.93	13.242	0.67	0.77	1.24	0.75	10.665

Body weight gain (%) = (Body weight gain / body weight on day 0) x 100.

Table 27 Gross findings of pups in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of C.I. Pigment Yellow 53 (PY53) in rats (SR-9984)

Item	Male				Female			
	Control	PY53 (mg/kg)			Control	PY53 (mg/kg)		
		250	500	1000		250	500	1000
Findings of dead pups at birth								
Number of animals examined	0	0	2	2	1	0	3	0
Organ : Findings ^a								
Findings of dead pups after birth								
Number of animals examined	1	0	0	3	1	0	0	1
Organ : Findings								
External : Scab	0	-	-	1	0	-	-	0
Findings of pups killed on day 4 of lactation								
Number of animals examined	88	85	82	71	86	72	72	78
Organ : Findings								
Liver : Yellowish white region	0	0	0	1	0	1	0	0
External : Trauma	0	0	0	0	0	0	1	0

Values are number of animals with findings.

-: Blank value.

a: There were no abnormal findings in all the organs and tissue.